

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

АЮПОВА ГУЗЕЛЬ РАМИЛЕВНА

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
МУКОВИСЦИДОЗА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

1.5.7. Генетика

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Хусаинова Рита Игоревна

УФА - 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Хронологические вехи изучения муковисцидоза	14
1.2 Эпидемиология муковисцидоза	18
1.3 Этиология и патогенез заболевания	20
1.3.1 Генетика муковисцидоза	22
1.3.2 Воспалительный процесс при муковисцидозе	32
1.3.3 Патологическая анатомия муковисцидоза	34
1.4 Клиническая характеристика и осложнения при муковисцидозе	35
1.5 Диагностика муковисцидоза	45
1.5.1 Неонатальный скрининг на муковисцидоз	45
1.6 Современные подходы к терапии муковисцидоза	48
Глава 2. Материалы и методы	57
2.1 Характеристика выборки исследования	57
2.2 Материалы исследования	67
2.3 Общеклинические методы	68
2.4 Эпидемиологические методы исследования	68
2.5 Молекулярно-генетические методы исследования	69
2.5.1 Выделение геномной ДНК	69
2.5.2. Секвенирование по Сенгеру	70
2.5.3 Массовое параллельное секвенирование нового поколения (NGS)	70
2.6 Биоинформатический и статистический анализ результатов	72
Глава 3. Результаты исследования и обсуждение	73
3.1 Эпидемиология муковисцидоза в Республике Башкортостан	73
3.2 Клинико-лабораторная характеристика муковисцидоза в РБ	77
3.3 Молекулярно-генетический ландшафт муковисцидоза в РБ	84

3.4 Анализ клинико-генетических корреляций с тяжестью заболевания с учетом класса патогенности мутаций	101
3.5 Частота носительства наиболее частых мутаций в гене <i>CFTR</i> в этнических группах РБ	114
3.6 Оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	121
ВЫВОДЫ	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	124
ПЕРСПЕКТИВА ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	126
Приложение А	144
Приложение Б	150

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Муковисцидоз, кистозный фиброз (Cystic fibrosis, МВ, OMIM 219700, МКБ-10 E 84, МВ) - аутосомно-рецессивное наследственное тяжелое заболевание, характеризующееся выраженной генетической гетерогенностью, в связи с этим клинической вариабельностью, тяжелым течением и неблагоприятным прогнозом [1]. Заболевание встречается во всем мире, различается по своей частоте у представителей различных популяций и этнических групп, выявляется с равной частотой среди мужского и женского населения. Чаше выявляется среди европеоидов и редкое в популяциях азиатских и негроидных рас. По данным Всемирной организации здравоохранения частота муковисцидоза в европейских странах составляет в среднем 1 на 2500 - 4500 новорожденных [30, 136], тогда как в Республике Башкортостан не превышает 1 на 35 000 новорожденных. По данным программы «14 Высокозатратных нозологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации в нашей стране зарегистрировано 4230 пациентов с муковисцидозом, наблюдается неравномерная частота заболевания в различных регионах страны, что связано с разнообразием популяций народов России.

Объединенное заседание Всемирной Организации Здравоохранения провело обобщение данных о частоте и спектре вариантов *CFTR*, обуславливающих муковисцидоз [Report of a Joint Meeting. The molecular Genetic Epidemiology of Cystic Fibrosis//WHO/HGN/CF/WG/04.02]. Муковисцидоз наиболее распространен среди лиц белой расы. Частота при рождении в монголоидной расе составляет 1:100000 - 350000, в европеоидной - 1:2500 - 4500 [30]. Состав населения определяет различия в частоте встречаемости МВ в рамках одной страны. Заболевание встречается во всех странах мира, но существуют выраженные популяционные отличия его частоты: с уменьшением градиента распространения с Севера на Юг и с Запада на Восток Евразии [38, 39]. Этнический состав населения и распределение патогенных вариантов гена *CFTR* в различных субъектах Российской Федерации, как в регионах мира значительно разнятся, также

существуют мутации специфичные для отдельных этносов, особенности распределения комплексных аллелей, поэтому определение регион специфичных особенностей спектра и частот мутаций гена *CFTR* позволяет выявить молекулярно-генетические особенности течения заболевания, что улучшает эффективность диагностических и лечебных мероприятий.

В основе молекулярного патогенеза заболевания лежат мутации в гене *CFTR* – трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), приводя к нарушениям синтеза, структуры и функции белка и к различным функциональным нарушениям в работе хлорных каналов, как следствие этого увеличивается вязкость секретов и развивается экзокринопатия, нарушая работу всех органов и систем, а в первую очередь органов дыхания, пищеварения, потовых желез, урогенитального тракта. Выделяют семь генетических классов мутаций в гене *CFTR*, обуславливающих развитие различной по тяжести течения клинической картины муковисцидоза. В современных базах данных, например, 20 международного проекта CFTR2 (<https://cftr2.org>) на 07.04.2023 представлено 719 патогенных генетических вариантов (Приложение В, таб. 22), The Human Gene Mutation Database (<https://my.qiagen.digitalinsights.com/bbp/view/hgmd/pro/all.php>) – около 2000, Clin Var - 2156 мутаций в гене *CFTR*. Доказано, что вариабельность клинической картины заболевания объясняется взаимодействием *CFTR* мутаций, модифицирующих факторов в гене *CFTR* и/или других генах и влияния окружающей среды [2].

Многообразие спектра и частот *CFTR* вариантов среди населения различных регионов мира вносит объективные сложности для ДНК-диагностики муковисцидоза и проведения генетического консультирования, поэтому необходимо изучение региональных клинико-генетических и эпидемиологических особенностей данного заболевания для разработки оптимальных алгоритмов диагностики и лечения.

Долгие годы основным критерием в постановке диагноза «муковисцидоз» считалось увеличение концентрации ионов хлора в секрете потовых желез - более

60 ммоль/л. На этом этапе лечение пациентов, страдающих муковисцидозом, было симптоматическим, при этом течение заболевания оставалось тяжелым и приводило к ранней летальности пациентов. Но в последние десятилетия современные достижения в области изучения молекулярно-генетических аспектов муковисцидоза позволили совершить научный прорыв в создании патогенетической терапии данного заболевания. Появились новые эффективные препараты, которые способствуют положительной динамике состояния здоровья пациентов и улучшению качества их жизни [3,4]. Для развития персонализированного подхода в лечении МВ необходимо оценить спектр и частоты распространенности мутаций в гене *CFTR* у пациентов из различных регионов РФ, с учетом популяционных особенностей коренных народов, определением генно-фенотипических корреляций, оценкой лабораторно-инструментальных и клинических особенностей заболевания.

В России научно-клиническое изучение молекулярно-генетических особенностей муковисцидоза и лечение пациентов проводится в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», в Федеральных центрах, а также Государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Научно-исследовательском институте детства Министерства здравоохранения Московской области», на протяжении последних десятилетий активно внедряются новые современные методы диагностики и терапии в региональных центрах муковисцидоза по всей стране.

Согласно современной стратегии диагностики и лечения МВ созданы единые клинические рекомендации, включающие ДНК-диагностику, что необходимо для назначения таргетной терапии [4]. Несмотря на впечатляющие успехи в области молекулярно-генетических исследований и разработку современных методов терапии, все еще остается множество нераскрытых вопросов о спектре и частотах патогенных изменений в гене *CFTR* в отдельных популяциях в регионах мира и в РФ в частности. Необходимо определить в популяциях частоту гетерозиготного носительства с учетом регион специфических мутаций у пациентов с МВ.

Интеграция и объединение различных клинических, эпидемиологических, молекулярно-генетических данных с оценкой их связи с патологическим звеном при МВ может дополнить существующие представления о патогенезе заболевания, а также генерировать новые знания, в том числе определить ключевые терапевтические молекулярные мишени, обеспечивая основу для прецизионной медицины.

Степень разработанности темы

Анализ территориальных и популяционных различий спектра и частоты вариантов в гене CFTR у пациентов с МВ проводился в РФ и представлен Петровой Н.В. в 2009 г, Мельяновской Ю.Л. в 2023 г., также в 2009 г. создан национальный регистр [Красовский, С.А. и др., 2021].

Варианты CFTR, идентифицируются с помощью различных методов ДНК-диагностики, в сложных ситуациях у пациентов с атипичным течением и пограничными показателям хлоридов в поте, применяются методы оценки функциональной активности ионных каналов. В настоящий момент необходимо описание генно-фенотипических корреляций с учетом данных ДНК-исследований. Комплексный анализ клинико-генетических данных для вариантов характерных для РБ не проводился, дополнительно требуется оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий с персонализированным подходом для каждой семьи с МВ в регионе.

Цель работы

Поиск патогенных вариантов гена CFTR, приводящих к развитию МВ, определение клинической вариабельности и молекулярной гетерогенности заболевания в РБ для оптимизации диагностики и лечения МВ, разработки алгоритмов медико-генетического консультирования отягощенных семей.

Задачи исследования

1. Оценка распространенности МВ в РБ с учетом этно-территориальной структуры региона, клинико-лабораторных характеристик заболевания с определением возрастных особенностей и тяжести течения.
2. Поиск патогенных вариантов в гене CFTR с применением современных методов ДНК-диагностики, в том числе NGS технологий, оценка спектра и частоты выявленных изменений.
3. Анализ клинико-генетических корреляций с тяжестью заболевания с учетом класса патогенности мутаций.
4. Определение гетерозиготного носительства выявленных мутаций в гене CFTR у членовотягощенных семей и в популяциях коренных народов Республики Башкортостан.
5. Разработка алгоритмов ДНК-диагностики МВ с учетом региональных особенностей молекулярно-генетической структуры заболевания в Республике Башкортостан, оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий.

Научная новизна исследования

Впервые проведен поиск и идентификация патогенных вариантов гена CFTR, приводящих к развитию МВ, идентифицировано 35 вариантов имеющих патогенно/вероятно патогенное значение, у 96,12% семей (124/129) обнаружены обе мутации. Впервые сделана подтверждающая ДНК-диагностика всем пациентам, находящимся на учете с МВ, членам их семей и пациентам, с пограничными показателями хлоридов в поте (50-60 ммоль/л), взяты образцы венозной крови у 135 пациентов из 129 семей, 250 членов их семей, 59 пациентов из группы риска. Исследование позволило выявить особенности спектра и частот

вариантов гена CFTR у пациентов из РБ в сравнении с данными национального регистра. Установлен спектр наиболее частых мутаций в гене CFTR у пациентов из РБ: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC>T (4,64%), CFTRdele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT(1,55%). Варианты: p.[G509D;E217G], 2143delT, p.[R1070Q;S466X], S1196X, W1282X, Y84X, наблюдались более чем у одного пациента, их частота 1,16%. Частота встречаемости 22 вариантов: G194R, 1525-1G>A, G551D, 2184delA, 621+1G>T, L1335P (4136T>C), R117C (481C>T), 4061G>A (W1310X), D1152H (3586G>C), 1717-1G>A, 1367del5, 3821delT(S1231fs), 4015delA, 2184insA, W1282R, CFTRdup6b-10, 2485C>T (R785X), S737F, 3041-15T>G, 12TG5T, W19G, с.3883_3888dup составила менее 1%, варианты S737F, 3041-15T>G, 12TG5T, W19G, с.3883_3888dup впервые выявлены у пациентов из России. Впервые определены частоты комплексных аллелей с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F) (8,11%), p.[R1070Q;S466X] (1,16%), p.[G509D;E217G] (1,16%).

Теоретическая и практическая значимость результатов

Результаты исследования позволили идентифицировать молекулярно-генетическую архитектуру МВ у пациентов из РБ, что позволило разработать научно обоснованный алгоритм ДНК-диагностики, оптимальный для РБ с учетом популяционных особенностей региона. Впервые с учетом результатов ДНК-диагностики пациентам назначена современная таргетная терапия.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для улучшения качества медико-генетического консультирования пациентов иотягощенных семей по МВ в РБ: применение регион специфичных особенностей для алгоритма ранней идентификации в первую очередь 15 мутаций (варианты нуклеотидной последовательности, варианты) в гене CFTR: F508del, E92K, 3849+10kbC->T, CFTRdele2-3, L138ins, N1303K, 394delTT, S1196X, p.[R1070Q;S466X], p.[G509D;E217G], 2143delT, Y84X, W1282X, G194R, 1525-

1G>A, суммарная частота их составила 90,26%. Дополнительно определяется вариант с.1399C>T (р.Leu467Phe, L467F), который образует комплексный аллель с самой распространенной мутацией F508del и приводит к не эффективности таргетной терапии.

Методология и методы диссертационного исследования

В настоящей работе проведен проспективный анализ клинических-лабораторных параметров больных МВ из РБ, по итогам его в молекулярно-генетическое исследование включены 1403 человек.

Исследование уровня хлоридов в поте проводились на приборе для сбора и анализа проводимости пота «Nanoduct». Неонатальный скрининг: измерение человеческого иммунореактивного трипсина (ИРТ) в образцах пятен цельной крови, собранных с использованием фильтровальной бумаги (Schleicher and Schuell's #903) проводился методом иммуноферментного анализа на оборудовании Wallak (Финляндия). Измерение флюоресценции проведено на приборе Виктор-2. Состояние и функцию легких определяли по показателю форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ, %) и объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1, %), согласно критериям ERS/ATS. Микробиологические исследования флоры дыхательных путей сделаны в бактериологических лабораториях, оценку хронического высева диагностировали согласно рекомендациям клиническим рекомендациям «Кистозный фиброз (муковисцидоз): микробиологическая диагностика хронической респираторной инфекции», 2018 г. Молекулярно-генетическое исследование проводилось с использованием мультиплексной лигазозависимой амплификации зондов (SALSA MLPA Probemix P091 CFTR, MRC Holland), таргетного секвенирования следующего поколения (NGS) гена CFTR (Набор ParseqLab, Россия) на платформе Illumina (MiSeq, США), с валидацией полученных результатов секвенированием по Сэнгеру. Оценку функциональной значимости изменений нуклеотидной последовательности генов

проводили, используя различные базы данных и предсказательные программы (SIFT, Polyphen2, MutPred, VarSome, EIGEN, FATHMM, PROVEAN, LRT и т.д.). Для анализа результатов NGS секвенирования использовалась программное обеспечение «VariFind». Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft) и SPSS.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Неравномерная распространенность муковисцидоза в 20 из 54 районов РБ, средний возраст пациентов в РБ $14,7 \pm 9,6$ лет, доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет – 25,5%. Средний возраст постановки диагноза - $3,3 \pm 6,0$, женщин с диагнозом МВ - 57,1%.

2. «Мягкий» фенотип заболевания установлен у 19,0% пациентов, «тяжелый» фенотип - у 81,0%. Средний показатель функции внешнего дыхания составил $80,1 \pm 26,7\%$ у детей, у взрослых - $70,3 \pm 22,6\%$. Частота инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* - 42,4%.

3. Идентификация молекулярного дефекта заболевания в 96,12% отягощенных семей. У пациентов из РБ выявлено 35 патогенных изменений нуклеотидной последовательности в гене CFTR, суммарная частота 15 мутаций составила 90,26%, большинство пациентов (79%) являются гомозиготными или компаунд-гетерозиготными носителями мутации F508del, частота комплексного аллеля L467F/F508del - 8,11%.

4. Генетическая гетерогенность МВ в этнических группах РБ, мутации, характерные для пациентов татарского и башкирского происхождения.

5. Алгоритм ДНК-диагностики МВ в РБ на основе идентификации 15 мутаций гена CFTR, с дополнительным определением варианта с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F), с последующим назначением таргетной терапии.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных результатов определяется соответствием дизайна исследования критериям доказательной медицины, репрезентативностью исследуемой группы пациентов, качественным проведением лабораторных и молекулярно-генетических исследований. Первичная документация и материалы статистической обработки проверены и признаны достоверными. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых изданиях. Выводы, сформулированные по результатам диссертационной работы, соответствуют поставленным задачам.

Апробация материалов диссертации

Результаты диссертационной работы докладывались на международных, всероссийских и межрегиональных научных конференциях: 20-21 мая 2021 г. заняла первое место в конкурсе постерных докладов на XV Национальном конгрессе «Инновационные методы диагностики и терапии муковисцидоза. Прорыв в будущее», г. Суздаль. 23.11.2021 г. представила доклад на тему «Муковисцидоз. От диагноза к терапии» в научно-практической школе для главных внештатных детских специалистов Минздрава Республики Башкортостан и врачей-педиатров, посвященной редким (орфанным) заболеваниям «Диагностика и лечение редких (орфанных) заболеваний», 19 - 26 июня 2022 г. - III Всероссийская конференция «Высокопроизводительное секвенирование в геномике», г. Новосибирск; 19 - 21 ноября 2022 г. XIII научная конференция «Генетика человека и патология» г. Томск; 30 ноября – 01 декабря 2022 года доклад «Спектр и частоты мутаций у пациентов с муковисцидозом из Республики Башкортостан» на Всероссийской научной конференции с международным участием «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства», посвященной 60-летию Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН г. Уфа; 28 сентября -29 сентября 2023 года I Всероссийская научная

конференция с международным участием с международным участием «Персонализированная медицина и современные генетические технологии» г. Уфа.

Публикации

Основные результаты по теме диссертационной работы представлены в 9 печатных работах соискателя, в том числе в 6 статьях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук (3 из которых в журналах, индексируемых в Scopus и WoS/Scopus, из них 1 относящаяся к Q2).

Внедрение результатов исследования

Алгоритм ДНК-диагностики МВ на основе популяционных особенностей народов Республики Башкортостан внедрен в работу ГБУЗ РМГЦ, данные применены для назначения модуляторов CFTR пациентам с муковисцидозом.

Личный вклад автора

Тема, цели и задачи диссертационной работы определены совместно с научным руководителем доктором биологических наук Хусаиновой Р.И. Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Подготовка рукописи диссертационной работы, автореферата и публикаций по результатам исследований проводились лично автором.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Хронологические вехи изучения муковисцидоза

Заболевание муковисцидоз известно с древности. Первые упоминания появились в средние века среди европейских народов считалось, что ребенок, при поцелуе которого ощущается соленый привкус на губах, обречен на скорую смерть, но объяснить патогенез заболевания не удавалось, ссылались на проклятие ведьм, указания на это есть в словаре Шведско-немецкого языка J. X. Pfyffer в 1848 году [5]. С развитием научных знаний развивались и представления о природе заболевания. В 1936 г. один из основоположников современной педиатрии Guido Fanconi впервые описал муковисцидоз, совместно с командой докторов они выявили и описали первые случаи кистозного фиброза поджелудочной железы и бронхоэктазы у детей, указав на семейный характер заболевания, затем в 1938 г. вышла монография американского патологоанатома D. H. Andersen «Кистофиброз поджелудочной железы и его взаимоотношение с целиакией». Таким образом, заболевание было выделено в самостоятельную нозологическую единицу [6]. D. H. Andersen и G. E. Gibbs впервые выдвинули теорию об аутосомно-рецессивном наследовании муковисцидоза в 1946 г. и G.E. Gibbs впервые указал на клиническую гетерогенность муковисцидоза [7].

В 1946 г. термин «муковисцидоз» (лат. mucus - слизь, viscus - вязкий) ввел американский педиатр S. Farber [8]. Он указал на вторичный характер поражения внутренних органов при этом заболевании, в связи с обструкцией вязкой слизью выводных протоков желез.

Во второй половине XX века ученые J. West, Di Sant'Agnesse P.A. впервые описали функциональное состояние и ателектазы в легких у пациентов с муковисцидозом. Изначально муковисцидоз называли «Болезнью соленого поцелуя», это наблюдение позволило в 1953 г. педиатрам из США во главе с Di Sant'Agnesse P.A. изучить симптом повышенного содержания хлоридов в поте у больных муковисцидозом, что позволило в 1959 г. L. E. Gibson и R. E. Cook

применить пилокарпиновый тест для проведения потовой пробы [9], который и сегодня является главным диагностическим критерием ранней диагностики муковисцидоза.

Доктора Н. Shwachman и L. Kulczycki представили медицинской общественности разработанную ими систему клинической оценки тяжести заболевания, которая является актуальной по настоящее время [10]. Легочная инфекция является ведущей причиной смертности при муковисцидозе, с началом эры применения антибиотикотерапии удалось увеличить продолжительность жизни больных, также ученые того времени понимали важность ранней постановки диагноза, особое значение придавали ежедневной кинезитерапии. В 1949-1953 годах Н. Shwachman и N. Hoiby провели исследования эффективности антибиотикотерапии и на основе их данных в схему лечения муковисцидоза с конца 70-х годов были внедрены регулярные (раз в три месяца) курсы внутривенной антибактериальной терапии препаратами с антисинегнойной активностью. С 1999 года для контроля инфекции *P. aeruginosa* начато применение ингаляционного тобрамицина - аминогликозида с антисинегнойной активностью, имеющего минимум побочных эффектов и хорошую переносимость. Исследования под руководством В. Ramsey показали достоверное улучшение объема форсированного выдоха на 10% за 20 месяцев наблюдения и уменьшение числа обострений, тогда как в группе плацебо отмечалась отрицательная динамика [11].

В 1961 г. Американский фонд кистозного фиброза создает сеть специализированных аккредитованных медицинских центров для лечения пациентов с муковисцидозом.

В 70-х годах D. N. Crozier, R. Kraemer, J. D. Allan установили, что высококалорийное питание с использованием очень высоких доз панкреатических ферментов эффективно для больных муковисцидозом, улучшение нутритивного статуса тесно коррелирует с выживаемостью, а дефицит веса существенно ухудшает прогноз для жизни [12, 13].

В 1979 г. J.R. Crossley и R.V. Elliot из Новой Зеландии предложили применение иммунореактивного трипсина для диагностики муковисцидоза в

неонатальном периоде, таким образом с середины восьмидесятых годов начал внедряться неонатальный скрининг на МВ в Англии, США [14, 15].

В восьмидесятых годах активно развивается оказание специализированной помощи пациентам с муковисцидозом, открываются центры МВ в Европе, Северной Америке и других странах. Активно начинает применяться антибиотикотерапия для борьбы с первичным инфицированием и профилактики хронизации инфекционных процессов [16, 17]. В стратегии терапии стандартом лечения хронических инфекций органов дыхания у больных муковисцидозом стали ингаляции антибиотиков в виде раствора или сухого порошка [18, 19].

В 1990 г. новым достижением в лечении МВ стал генно-инженерный муколитик - дорназа альфа. К концу года применения препарата дорназа альфа у больных отмечается увеличение объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФД₁,%) на 7,3%, снижается инфицирование синегнойной палочкой дыхательных путей. Установлено, что как краткосрочное (от 1 недели до 2 месяцев), так и долгосрочное (от 1 до 4 лет) лечение дорназой альфа снижало частоту обострений бронхолегочного процесса, значительно замедляло регресс ОФВ₁, улучшало нутритивный статус, а также оказывало выраженное противовоспалительное действие [20]. В 1993 г. для терапии муковисцидоза начал применяться инновационный препарат панкреатин (мини-микросферы в кишечнорастворимой оболочке), он улучшил нутритивный статус больных муковисцидозом.

Методами лечения, продлевающими жизнь пациентам, являются применение гипертонического раствора для ингаляций, кинезиотерапия, внедрена методика трансплантации органов [21, 22, 23,24].

В 1989 г. совместная работа группы ученых из Канады и США под во главе с L. Ch.Tsui и Fr. Collinsa выявила мажорный ген, который получил название - трансмембранный регулятор проводимости муковисцидоза (*CFTR*) [25]. Началась эпоха ДНК-диагностики муковисцидоза и поиска мутаций, вовлеченных в патогенез заболевания. В 1999 г. создан Консорциум по генной терапии (Англия),

так же в Северной Америке, где идут исследования и создание фармакогенетической терапии при муковисцидозе.

Большой вклад в изучение муковисцидоза внесли отечественные ученые. У истоков исследования проблемы муковисцидоза в бывшем СССР стояли профессора С. В. Рачинский и В. К. Таточенко, Н. И. Капранов. Российские ученые: К. К. Примбетов, М. Я. Ниязова, А. Б. Абилов, М. Г. Георгобиани, И. Е. Турина, Л. А. Петросян, Н. Ю. Каширская, О. И. Симонова, Т. Е. Гембицкая, Л. А. Желенина, А. Г. Черменский, Л. Ковалёва, В. С. Баранов, Т. Э. Иващенко, А. Г. Чучалина, Л. Кренина, Е. Л. Амелина, С. А. Красовский, В. А. Самойленко, М. В. Самсонова, А. Л. Черняев, А. В. Черняк, С. Н. Авдеев и др. - проводили исследования патофизиологических и патоморфологических особенностей, микробиологического статуса у пациентов, иммунологических, микроциркуляторных, сердечно-сосудистых нарушений, поражение желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, клинико-функциональной эффективности кинезиотерапии при муковисцидозе и совершенствование методов его лечения и медико-генетического консультирования семей. Генетике муковисцидоза в нашей стране посвящены труды ученых: Е. К. Гинтер, Н. В. Петрова, В. С. Баранов, Т.Э. Иващенко, С. А. Красовский, Е. И. Кондратьева, О. И. Голубцова, С. Л. Кожевникова, Г. В. Павлов и др. [26].

На протяжении многих лет в России организацией помощи пациентам с муковисцидозом, научной, учебной работой руководил Николай Иванович Каправнов. Его ученики Е.И. Кондратьева, Н.Ю. Каширская, Е.Л., Амелина и др. продолжают развивать службу помощи пациентам с муковисцидозом в Российской Федерации. С 1990 г. открываются сеть центров по оказанию специализированной помощи пациентам с МВ. В настоящий момент в РФ функционирует сеть из 57 региональных центров диагностики и лечения детей и 10 центров для взрослых, больных муковисцидозом, возглавляемые ФГБНУ Медико-генетическим научным центром им. академика Н.П. Бочкова и ГБУЗ МО Научно-исследовательский институт детства Министерства здравоохранения МО [27, 28].

Существенную помощь в совместной работе по помощи пациентам совместно с медиками осуществляют Благотворительный Фонд «Острова» и Фонд «Круг Добра».

Значительное улучшение ранней диагностики заболевания достигнуто в 2006 г. после внедрения программы обязательного неонатального скрининга на муковисцидоз [29]. Комплексный мультидисциплинарный подход к ранней диагностике и своевременной терапии заболевания способствовал увеличению продолжительности жизни больных. Проведены глубокие исследовательские поиски и достигнут прогресс в понимании последствий мутаций в гене для структуры и функции белка CFTR, созданы лекарственные средства, специфичное для мутаций, но они доступны только для определенных мутаций. Продолжаются разработки ряда соединений с иными механизмами действия. Можно предвидеть, что новые комбинации соединений улучшат коррекцию функции белка CFTR. Развитие новых стратегий, таких как создание препаратов для преждевременного считывания стоп-кодонов, антисмысловых олигонуклеотидов, которые будут исправлять основной дефект на уровне мРНК, редактирование гена для восстановления дефектного гена, генной терапии - позволит влиять на патогенез заболевания, что повысит эффективность лечения для всех пациентов с муковисцидозом [30].

1.2 Эпидемиология муковисцидоза

Муковисцидоз - частое наследственное летальное заболевание. Чаще встречается у европеоидной расы - 1 на 2500 новорожденных [26]. Согласно литературным источникам, данным Всемирной организации здравоохранения средняя частота МВ составляет в России и Европе 1:10000 [31, 32], в США - 1:3500, в Австралии - 1:2500, в ЮАР - 1:7056. В настоящее время почти 90000 населения Земли поражено МВ, заболевание встречается с равной частотой у людей обоих полов. Средняя частота заболевания составляет 1:6000 новорожденных в мире [33].

В Российской Федерации с 2011 года существует Национальный регистр МВ, по официальным данным в 2021 г. в нем состоит 3722 пациента, общее количество пациентов с муковисцидозом в РФ по данным «Программы 14 высокочувствительных нозологий» Министерства Здравоохранения РФ составляет 4230 человек. Частота муковисцидоза в Российской Федерации 0,25 на 10000 населения согласно данным Регистра больных муковисцидозом от 2021 г. [29]. В России тремя мажорными мутациями в гене *CFTR* являются F508del; CFTRdele2,3; E92K - их частота соответственно 53%, 6,09%, 3,04%, в различных регионах эти показатели варьируют, что должно учитываться при диагностике муковисцидоза. Наибольшая распространенность (в абсолютных числах) МВ в регионах по данным Федерального регистра МВ РФ в г. Москва (455), Московской области (256), Санкт-Петербурге (183), Краснодарском крае (141), Республике Татарстан (133), Ростовской области (121) Нижегородской области (117), Самарской области (111), Свердловской области (109), в этих регионах абсолютное число пациентов превышает 100 человек. В Республике Башкортостан (98).

Предполагается, что мутации F508del в Европе широко распространилась в результате употребления молока в пищу. Гетерозиготные носители вариантов в гене *CFTR* могут иметь устойчивость к развитию диареи [34]. Предположительно возраст варианта F508del в гене *CFTR* примерно 6000-52000 лет, некоторые ученые считают, что возможно и больше [35]. Спектр и частоты *CFTR* мутаций в разных регионах мира отражают историю заселения и формирования современного населения конкретных территорий [36]. Распределение и частота вариантов *CFTR* имеют региональные особенности в разных странах и континентах, однако F508del является мажорной мутацией повсеместно.

Серьезной проблемой остается то, что больные дети рождаются в «здоровых семьях», поэтому определение гетерозиготного носительства является важной задачей современного здравоохранения для оценки рисков рождения больных детей. За последнее десятилетие отмечается прогресс в оказании медицинской помощи пациентам с муковисцидозом, что привело к большей выживаемости, увеличению числа пациентов старше 18 лет возраста, что обусловлено внедрением

медикаментозных и немедикаментозных мероприятий, эти обстоятельства главным образом связаны с идентификацией вариантов гена *CFTR*, развитием ранней диагностики, применение подходов прецизионной медициной для пациентов и их семей. Муковисцидоз - заболевание наиболее изученное, с точки зрения многих научных аспектов. Накопленный опыт о МВ, успешно внедряется и применяется в практическое здравоохранение. Муковисцидоз является моделью для развития знаний в области других наследственных нозологий в части развития персонализированного подхода.

1.3 Этиология и патогенез заболевания

МВ - наследственное аутосомно-рецессивное заболевание. Заболевание вызывают патогенные варианты нуклеотидной последовательности в гене муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (*МВТР*; Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator - *CFTR*).

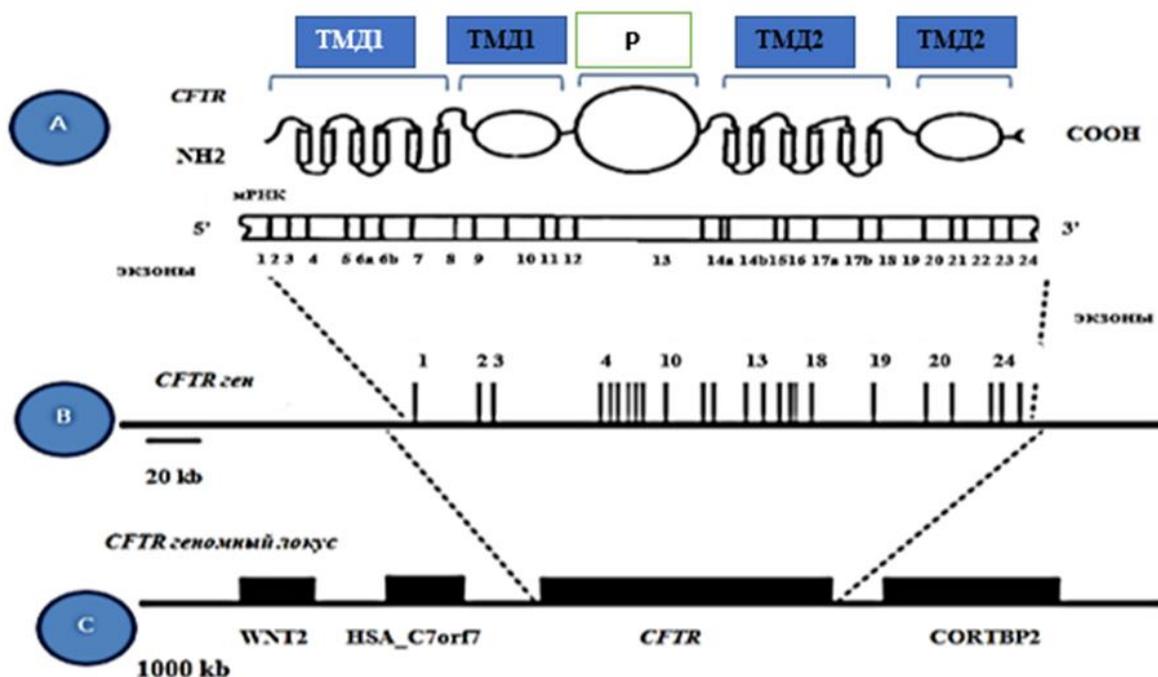


Рисунок 1 - Структура локуса, гена, мРНК и белка

CFTR – по автору Rowntree R.K. (рисунок заимствован с изменениями [28,41]).

Продукт гена *CFTR* относится к суперсемейству циклический аденозинтрифосфат-связывающих кассетных протеинов (ABC-ATP-bindingcassette), является трансмембранным белком, который располагается на поверхности большинства эпителиальных клеток и функционирует как циклический аденозиномонофосфат-зависимый хлорный канал [40] (рис. 1).

А – мРНК и белок CFTR, ТМД 1,2 -трансмембранные домены, НСД1,2 - нуклеотид связывающие домены, Р – регуляторный домен;

В – ген *CFTR*, экзоны обозначены вертикальными линиями;

С – геномный локус, гены обозначены горизонтальными блоками.

Установлено, что белок CFTR человека представляет собой многодоменный интегральный мембранный белок из 1480 остатков, который регулирует поток ионов хлора через клеточную мембрану. Он является членом надсемейства белков-транспортеров АТФ-связывающей кассеты и состоит из двух трансмембранных доменов (ТМД1,2), двух нуклеотид связывающих доменов (НСД1,2) и регуляторной области (Р). Уникальный регуляторный домен контролирует активность канала. Трансмембранные сегменты соединены между собой четырьмя внутриклеточными петлями, расположенными на поверхности клетки, и шестью внеклеточными петлями, находящимися снаружи клетки, именно в апикальной мембране CFTR выполняет свою функцию [41].

В целом функциями белка CFTR являются [43, 44, 45]:

1. Баланс между всасываем ионов хлора и натрия для обеспечения в дыхательном тракте мукоцилиарного клиренса.
2. Транспорта ионов калия и кальция в легких и в желудочно-кишечном тракте.
3. Секреция гидрокарбонатов в поджелудочной железе.
4. при воспалении увеличивается синтез малонил-СоА, нарушается метаболизм жирных кислот.

5. Выведение глутатиона из клеток дыхательного эпителия.

1.3.1 Генетика муковисцидоза

Ген *CFTR* расположен на длинном плече 7 хромосомы (7q31.2), протяженность составляет 250 т.п.н, состоит из 27 экзонов [25]. Функция гена *CFTR* включает работу мембранного транспорта карбоксил-иона, глутатиона, ионов хлора, натрия, калия, кальция, обеспечивая контроль рН внутри и вне клетки [43, 44, 45], участвует в развитии эндогенного воспаления у пациентов с муковисцидозом [46]. Белок CFTR диффундирует карбоксил- иона, регулируя тем самым рН внутри и снаружи клетки [47], активирует анионные транспортеры 81с26а3 и 81с26а6: некоторые варианты гена *CFTR* меняют их работу, что приводит к уменьшению выделения иона HCO_3^- в поджелудочной железе, часто наблюдаемому при кистозном фиброзе [48]. CFTR выводит глутатион (08H) из дыхательных эпителиоцитов. Глутатион, один из важных внутри- и внеклеточных антиоксидантов, обеспечивает защиту таких тканей, как легочная, в ответ на воздействие высоко реактивных кислородных микроорганизмов. Уровень транспорта глутатиона через мутантный *CFTR* меньше по сравнению с *CFTR* дикого типа [45].

CFTR секретирует жидкости железами подслизистой оболочки, расположенных в апикальных мембранах клеток поверхностного эпителия респираторного тракта. CFTR осуществляет абсорбцию хлоридов вслед за абсорбцией натрия, происходящей через натриевые каналы, ENaC. Баланс между транспортными функциями необходим для поддержания нормального объема поверхностной жидкости дыхательных путей для обеспечения мукоцилиарного клиренса от слизи и бактерий. При сокращается объем поверхностной жидкости, что приводит к увеличению вязкости жидкого секрета и неэффективности клиренса [45, 48]. Также CFTR регулирует транспорт ионов K^+ и Ca^{2+} дыхательной и пищеварительной системах [48].

Муковисцидоз характеризуется широкой вариабельностью клинических проявлений, объясняемой большим числом мутаций в гене *CFTR*. Варианты гена *CFTR* в зависимости от таких характеристик, как патогенные, вероятно патогенные неопределенного значения, вероятно доброкачественные, и доброкачественные, представлены в базе ClinVar [49].

В 2007 г. принята классификация вариантов гена *CFTR*, где выделено четыре группы в соответствии с клиническими последствиями. Данные включены в веб-ресурс CFTR, отмечены 2090 вариантов, по состоянию на 10.01.2020 г. аннотировано 432 варианта: 352 – патогенных, 46 – с варьирующим клиническим значением, 23 – не патогенных, 11 – с неизвестным клиническим значением. В ходе различных исследований у пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации идентифицировано 230 вариантов гена *CFTR* [29].

В зависимости от механизма влияния на функцию белка CFTR все варианты нуклеотидной последовательности гена *CFTR* схематично подразделяют на 7 классов - мутации I и VII классов препятствуют синтезу белка CFTR, мутации II класса вызывают нарушение фолдинга белка и снижение его количества, при остальных классах мутаций происходит формирование нефункционального CFTR, нарушается его транспорт к апикальной мембране клетки или снижается проводимость для анионов хлора (таб. 1) [41].

Таблица 1. Варианты гена *CFTR*, идентифицированные у пациентов в Российской Федерации [29]

№ п.п	Название генетического варианта	Класс мутации	%	№ п.п.	Название генетического варианта	Класс мутации	%
1.	F508del	II	52,61	116.	T1036N	неизвестно	0,03
2.	CFTRdele2,3	I	6,15	117.	W79X	I	0,03
3.	E92K	неизвестно	3,25	118.	Y1092X	I	0,03
4.	1677delTA	I	2,12	119.	Y362X	I	0,03
5.	3849+10kbC->T	V	2,11	120.	Y569H	неизвестно	0,03
6.	2143delT	I	2,02	121.	1078delT	I	0,01

Продолжение таблицы 1

7.	2184insA	I	1,93	122.	1525-1G->A	I	0,01
8.	W1282X	I	1,73	123.	1660delG	I	0,01
9.	L138ins	IV	1,53	124.	2114delT	I	0,01
10.	N1303K	II	1,53	125.	2185insC	I	0,01
11.	G542X	I	1,46	126.	2221insA	неизвестно	0,01
12.	394delTT	I	0,85	127.	2790-2A->G	V	0,01
13.	R334W	V	0,74	128.	296+1G->T	I	0,01
14.	S466X(TGA);R1070 Q	неизвестно	0,59	129.	3121-2A->G	неизвестно	0,01
15.	W1282R	II	0,55	130.	3272-11A->G	V	0,01
16.	3821delT	I	0,51	131.	3601-65C/A	неизвестно	0,01
17.	S1196X	I	0,45	132.	3791delC	I	0,01
18.	1367del5	I	0,40	133.	4005+1G>T	I	0,01
19.	2789+5G>A	V	0,38	134.	4022insT	I	0,01
20.	R1066C	II	0,38	135.	4040delA	I	0,01
21.	3272-16T>A	V	0,33	136.	406-1G->A	I	0,01
22.	W1310X	I	0,29	137.	4095+1G->T	I	0,01
23.	3944delGT	I	0,32	138.	-461A->G	неизвестно	0,01
24.	712-1G->T	I	0,22	139.	541del4	I	0,01
25.	621+1G->T	I	0,20	140.	5T	V	0,01
26.	R553X	I	0,20	141.	624delT	I	0,01
27.	4015delA		0,17	142.	663delT	I	0,01
28.	L1335P	IV	0,17	143.	-741T->G	неизвестно	0,01
29.	R785X	I	0,17	144.	A455E	V	0,01
30.	R1162X	I	0,16	145.	c.1279delA	I	0,01
31.	S466X	I	0,16	146.	c.1580dupA	I	0,01
32.	1898+1G->C	I	0,14	147.	c.1584+18672 A>G	неизвестно	0,01
33.	CFTRdup7-11(6b- 10*)	I	0,14	148.	c.1679+2T>C	неизвестно	0,01
34.	1898+1G->A	I	0,13	149.	c.1680-1G>C	I	0,01
35.	R347P	IV	0,13	150.	c.1761del	неизвестно	0,01
36.	3667ins4	I	0,12	151.	c.2312delA	неизвестно	0,01
37.	3849G->A	неизвестно	0,12	152.	c.264_268delA TATT	I	0,01
38.	G85E	II	0,12	153.	c.3229_3230de ICT	I	0,01
39.	S1159F	неизвестно	0,12	154.	c.353delC	I	0,01

Продолжение таблицы 1

40.	2183AA->G	I	0,10	155.	c.3615_3625del	I	0,01
41.	R1070Q	IV	0,10	156.	c.3717+1219C>A	неизвестно	0,01
42.	R117C	IV	0,10	157.	c.37dupT	неизвестно	0,01
43.	S945L	неизвестно	0,10	158.	c.3873+4485A>T	неизвестно	0,01
44.	3659delC	I	0,09	159.	c.3893delG	I	0,01
45.	4016insT	I	0,09	160.	c.3927_3938del GTGGAGTG ATCA	I	0,01
46.	c.1766+2T>C	I	0,09	161.	c.3983T>A	неизвестно	0,01
47.	D110H	неизвестно	0,09	162.	c.4078delG	I	0,01
48.	D1152H	IV	0,09	163.	c.4094delA	неизвестно	0,01
49.	E217G	неизвестно	0,09	164.	c.527delG	I	0,01
50.	R1158X	I	0,09	165.	c.546T>A	неизвестно	0,01
51.	1248+1G->A	I	0,07	166.	c.583delC	I	0,01
52.	175delC	I	0,07	167.	c.743+2T>A	неизвестно	0,01
53.	2721del11	I	0,07	168.	C590Y	неизвестно	0,01
54.	574delA	I	0,07	169.	CFTRdel4-8(4-7*);del10-11(9-10*)	I	0,01
55.	A96E	неизвестно	0,07	170.	CFTRdele1-11(1-10*)	I	0,01
56.	L732X	I	0,07	171.	CFTRdele12,13(11-12*)	I	0,01
57.	p.Tyr84X	I	0,07	172.	CFTRdele2(2*)	I	0,01
58.	S1455X	неизвестно	0,07	173.	CFTRdele2-8(2-7*)	I	0,01
59.	1717-1G->A	I	0,06	174.	CFTRdele8(7*)	I	0,01
60.	4382delA	IV	0,06	175.	CFTRdele8-9(7-8*)	I	0,01
61.	604insA	I	0,06	176.	D572N	неизвестно	0,01
62.	G194R	неизвестно	0,06	177.	D806G	неизвестно	0,01
63.	R117H-T7	IV	0,06	178.	E1104X	I	0,01
64.	R792X	I	0,06	179.	F1052V	неизвестно	0,01
65.	S1159P	неизвестно	0,06	180.	F1286S	неизвестно	0,01

66.	1259insA	I	0,04	181.	G1249E	неизвестно	0,01
67.	185+1G->T	I	0,04	182.	G178R	III	0,01
68.	2043delG	I	0,04	183.	G27X	I	0,01
69.	3272-26A->G	V	0,04	184.	G314R	неизвестно	0,01
70.	4428insGA	I	0,04	185.	G509D	неизвестно	0,01
71.	CFTRdele4-11(4-10*)	I	0,04	186.	G970D	неизвестно	0,01
72.	D579Y	неизвестно	0,04	187.	I506T	неизвестно	0,01
73.	G509R	неизвестно	0,04	188.	K598X	I	0,01
74.	G551D	III	0,04	189.	L1093P	неизвестно	0,01
75.	K710X	I	0,04	190.	L159S	неизвестно	0,01
76.	p.Leu581X	I	0,04	191.	L218X	I	0,01
77.	Q290X	I	0,04	192.	L233F	неизвестно	0,01
78.	Q39X	I	0,04	193.	L568F	неизвестно	0,01
79.	Q98R	неизвестно	0,04	194.	p.Asn505His	неизвестно	0,01
80.	1716+1G->A	I	0,03	195.	p.Gln1038X	I	0,01
81.	1811+1,6kbA->G	V	0,03	196.	p.Gln378X	неизвестно	0,01
82.	2184delA	I	0,03	197.	p.Glu1433Gly	неизвестно	0,01
83.	3120+1G->A	I	0,03	198.	p.Glu402X	I	0,01
84.	3130delA	I	0,03	199.	p.Glu92Ala	неизвестно	0,01
85.	3271+1G>T	I	0,03	200.	p.Leu812X	I	0,01
86.	365-366insT	неизвестно	0,03	201.	p.Lys1468Asn	неизвестно	0,01
87.	4374+1G->A	I	0,03	202.	p.Phe1078Ile	неизвестно	0,01
88.	5T;TG12	V	0,03	203.	p.Pro988Arg	неизвестно	0,01
89.	681delC	I	0,03	204.	P5L	неизвестно	0,01
90.	A141D	неизвестно	0,03	205.	Q1291R	неизвестно	0,01
91.	c.1219delG	I	0,03	206.	Q1412X	I	0,01
92.	c.1329_1350del TATTAATTTCAAG ATA	I	0,03	207.	Q1476X	неизвестно	0,01
93.	c.1608delA	I	0,03	208.	Q359K/T360K	неизвестно	0,01
94.	c.1708_1712delTTA TT	неизвестно	0,03	209.	R1066H	неизвестно	0,01
95.	c.174_177delTAGA	неизвестно	0,03	210.	R1070W	IV	0,01
96.	c.2619+1G>A	I	0,03	211.	R1102X	I	0,01
97.	c.3325delA	I	0,03	212.	R117H	IV	0,01
98.	c.3815_3816insTTG	неизвестно	0,03	213.	R153I	неизвестно	0,01
99.	c.869+2T>G	I	0,03	214.	R347H	IV	0,01
100.	CFTRdup7-8 (6b,7*)	I	0,03	215.	R668C	неизвестно	0,01
101.	E403D	неизвестно	0,03	216.	R709X	неизвестно	0,01
102.	E831X	I	0,03	217.	R851X	I	0,01
103.	E92X	I	0,03	218.	S434X	неизвестно	0,01

Продолжение таблицы 1

104.	G1047S	неизвестно	0,03	219.	S549N	III	0,01
105.	G480S	неизвестно	0,03	220.	T604I	неизвестно	0,01
106.	K598ins	неизвестно	0,03	221.	TG13T5	V	0,01
107.	p.Asp993Ala	неизвестно	0,03	222.	V392G	неизвестно	0,01
108.	p.Gly509Val	неизвестно	0,03	223.	W1063X	I	0,01
109.	p.Pro205Thr	неизвестно	0,03	224.	W277R	неизвестно	0,01
110.	p.Trp277X	I	0,03	225.	W401X	I	0,01
111.	p.Trp361X	I	0,03	226.	W57G	неизвестно	0,01
112.	P205S	неизвестно	0,03	227.	W882X	I	0,01
113.	Q493R	неизвестно	0,03	228.	Y1032C	неизвестно	0,01
114.	R75X	I	0,03	229.	Y569C	неизвестно	0,01
115.	S1255P	III	0,03	230.	Y569D	III	0,01

На рисунке 2 изображен биосинтетический механизм белка CFTR. Определяется он, как АТФ-связывающий кассетный транспортер класса С, он способствует оттоку хлорида, бикарбоната и воды через плазматическую мембрану.

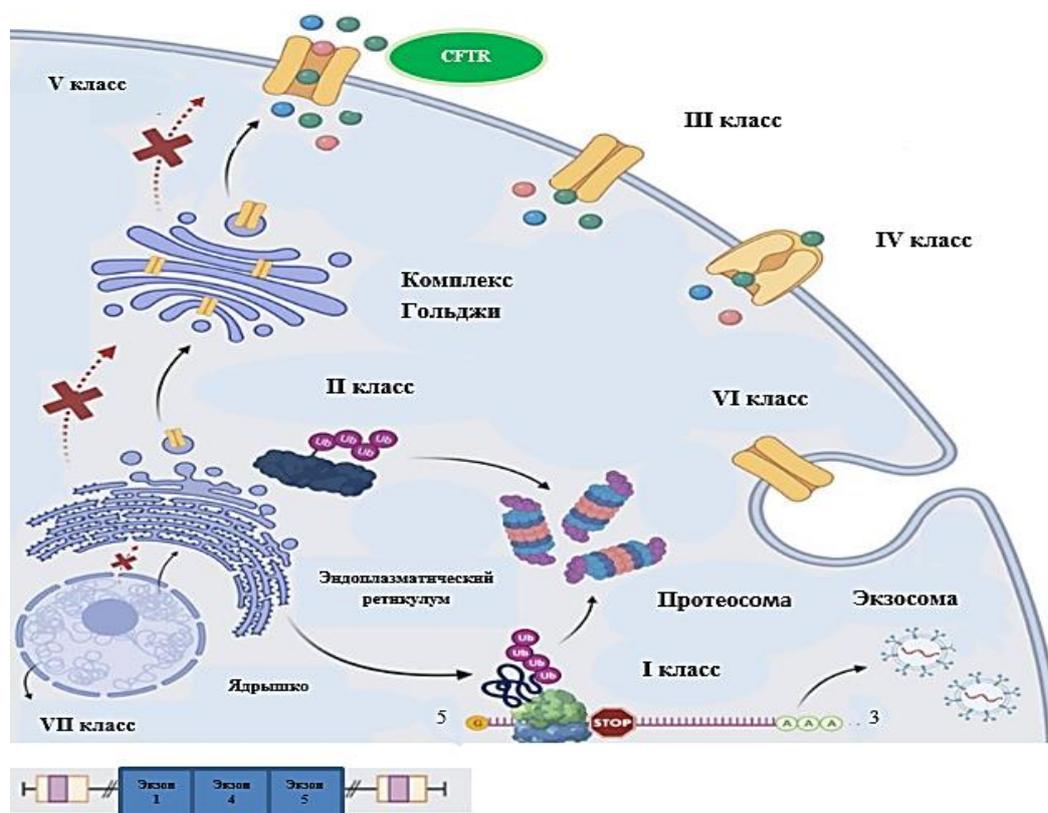


Рисунок 2 – Патогенные варианты в гене *CFTR* в зависимости от функциональных последствий рисунок (заимствован с изменениями [49]).

Биогенез включает транскрипцию и сплайсинг в ядре; трансляцию, фолдинг и гликозилирование ядра в эндоплазматическом ретикулуме; транспорт к клетке Гольджи и через нее, включая дальнейшее гликозилирование и другие посттрансляционные модификации; и везикулярную доставку к поверхности клетки. Варианты *CFTR* нарушают один или несколько этапов этого пути и подразделяются на семь подклассов на основе молекулярных особенностей. Это дефекты при I классе - синтеза белка (например, нонсенс-кодоны, варианты сплайсинга); при II классе - процессинга (например, аномалии фолдинга); при III классе - стробирования каналов; при IV классе - ионной проводимости через деформированную пору; при V классе - экспрессии на поверхности клетки; при VI классе - стабильности и оборота плазматической мембраны; и (VII класс) продукции мРНК [49]. Это упрощенная схема, так как один и тот же вариант может вызвать несколько видов нарушения работы белка, и не для всех вариантов нуклеотидной последовательности гена *CFTR* определен класс. В таких случаях отмечается, что класс «не определен» (таб. 2).

Генетические варианты I-III и VII классов приводят к полному или почти полному прекращению функции хлорного канала и относятся к «тяжелым». Генетические варианты IV - VI классов относятся к группе «мягких» в связи с сохранением остаточной активности хлорного канала и экзокринной панкреатической функции. «Мягкие» варианты доминируют над «тяжелыми» в отношении панкреатического фенотипа. Современные технологии ДНК диагностики позволяют выявлять новые генетические варианты гена *CFTR* при муковисцидозе [50]. В целом, пациенты, гомозиготные по мутациям класса I - III, проявляют фенотип, связанный с панкреатической недостаточностью, более высокой частотой осложнений в виде мекониального илеуса, преждевременной смертностью, более ранним и более серьезным ухудшением функции легких и тяжелым поражением печени. Мутации класса IV - V обычно связаны с более легким течением поражения легких, пожилым возрастом на момент смерти, недостаточностью поджелудочной железы. Мутации класса IV - V являются

фенотипически доминирующими, если встречаются в сочетании с мутациями класса I - III [51].

Таблица 2. Характеристика механизмов влияния мутаций в гене *CFTR* [42]

Класс	Патологический процесс	Мутации
I	Белок не синтезируется	G542X, W1282X, R553X, 621+1C>T, 2143delT, 1677delTA
II	Белок не сворачивается	F508del, N1303K, I507del, S549I, S549R
III	CFTR-канал не функционирует	G551D, G1244E, S1255P
IV	Функция проводимости CFTR-канала снижена	R334W, R347P, R117H
V	Снижено количество белка или РНК	3849+10kbC>T, A455E, IVS8(5T), 1811+1,6kbA>G
VI	Белок нестабильный	S1455X
VII	Нет мРНК	CFTRdele2,3(21kb) Протяженные перестройки гена <i>CFTR</i>

Эта классификация применяется для создания лекарственных средств, воздействующих на молекулярный механизм заболевания.

В настоящее время предложена модификация текущей схемы классификации, которая представляет собой перестановки традиционных мутаций *CFTR* класса I–VI. Эта расширенная классификация учитывает необычно сложные комбинаторные молекулярные / клеточные фенотипы вариантов *CFTR*. Она состоит из 31 возможного класса мутаций, включая исходные классы I, II, III, V, V и VI, а также их 26 комбинаций, как показано на диаграмме Венна, Рисунок 3. На диаграмме Венна отражены все комбинации с выбранными патогенными вариантами, неопределенные варианты показаны серым цветом. Для простоты мутации III и IV классов, представляющие функциональные дефекты (стробирование и проводимость соответственно), объединены. Например, согласно расширенной классификации, G551D, как и раньше, соответствует III классу,

Популяционная частота носительства мутаций гена *CFTR* среди фенотипически здоровых лиц в Российской Федерации составляет 1 случай на 30 человек, что сопоставимо с мировыми данными [55]. Спектр мутаций, ассоциированных с развитием муковисцидоза у российских больных, существенно отличается от европейского. Как и в нашей стране, наиболее распространенной в Европе мутацией является F508del, однако в Европе она идентифицируется более часто, в 61,5% случаев. Второе место по распространенности в Европе у мутации G542X с частотой встречаемости 2,6%, далее следует мутация N1303K (2,1%). Доля идентифицированных мутаций *CFTR* - 9,6% [51].

Различия спектра и частоты мутаций вносят определенные сложности в разработку протоколов ДНК-диагностики муковисцидоза и генетического консультирования населения разных этнических групп в различных регионах. Хотя вариабельность клинического течения муковисцидоза, несомненно, обусловлена многочисленностью генотипов, но различия в течении заболевания у больных с одинаковыми мутациями (в частности, у сибсов) предполагают влияние на клиническую картину муковисцидоза многих факторов: *CFTR*-мутаций, различных генов-модификаторов как в гене *CFTR*, так и в других генах, также велико и влияние факторов окружающей среды, включая своевременность установки диагноза и терапию [29].

Проблема муковисцидоза требует дальнейшего изучения и проведения эпидемиологических исследований, оценки клинико-генетических особенностей заболевания, совершенствования ранней диагностики, лечения и профилактики заболевания; получения точных данных о распространенности муковисцидоза в целом и его клинических форм. В настоящее время существующие панели не позволяют выявить все патогенные варианты гена, поэтому еще не определены частота и спектр мутаций, участвующих в патогенезе заболевания, носительство патогенных вариантов у членов семей. Важным моментом является определение распространенности частых мутаций среди больных муковисцидозом в популяциях с разным этническим составом.

Идентифицировано более 2000 различных мутаций в *CFTR*, и подтверждена патогенность 400 мутаций (<http://www.genet.sickkids.on.ca/app>). На рисунке 4 представлены частоты вариантов (>0,3%) *CFTR* в мире, спектр и частота их различаются в разных странах и этнических группах [153].

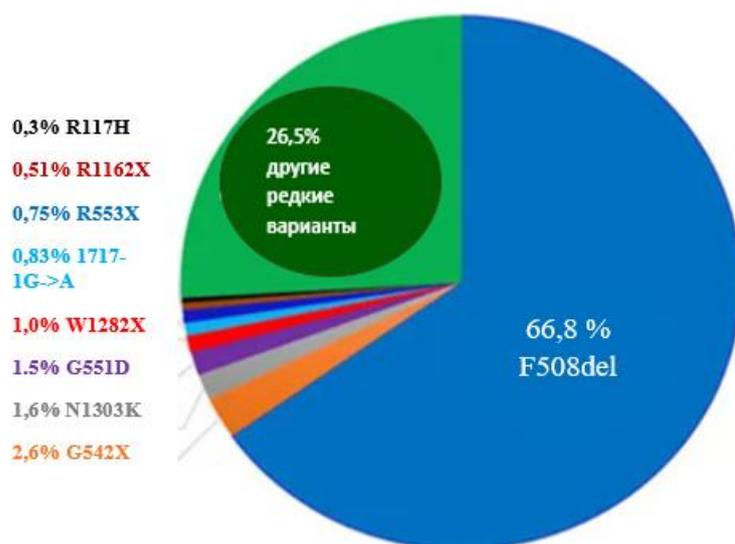


Рисунок 4 – Частота патогенных вариантов в гене *CFTR* в мире (рисунок заимствован с изменениями [153]).

Научный интерес представляет определение взаимосвязи клинических форм, характера нарушения функций отдельных органов и систем, особенностей течения муковисцидоза с типом мутации патологического гена, а также применение современной таргетной терапии с целью совершенствования профилактических и лечебных мероприятий.

Понимание молекулярного механизма развития муковисцидоза при различных генетических вариантах мутаций гена *CFTR* позволит определить прогноз течения заболевания и использовать современные технологии для восстановления функции дефектного белка CFTR [42].

1.3.2 Воспалительный процесс при муковисцидозе

Течение муковисцидоза характеризуется генерализацией воспалительного процесса (нейтрофильная инфильтрация и чрезмерный воспалительный ответ).

Воспаление при муковисцидозе первично, развивается независимо от микробной контаминации. В 2007 г. команда ученых во главе с Verhaeghe С. доказали увеличение уровня противовоспалительных цитокинов в легких плодов с муковисцидозом, что говорит о наличии асептического воспаления и запуске экспрессии генов противовоспалительных цитокинов еще до рождения ребенка под воздействием дефектного гена *CFTR* [26]. Ген *CFTR* экспрессируется в эпителиальных клетках, в иммунной системе, фибробластах, кардиомиоцитах, гепатоцитах, нейронах, остеокластах, хондроцитах, клетках почек, миоцитах, нейронах [56, 57].

Белок CFTR участвует в процессе воспаления. Воспаление при МВ является следствием колонизации тканей бактериями и вирусами [28, 46]. Однако в ряде экспериментов *in vitro* было показано, что воспалительный процесс при МВ может быть индуцирован эндогенными факторами [92], такими как ускорение метаболизма жирных кислот, который контролируется малонил-СоА. Уменьшение количества и/или отсутствие белка CFTR приводит к повышению уровня синтеза малонил-СоА, что и нарушает метаболизм жирных кислот.

При муковисцидозе нарушается клеточный гомеостаз во всех органах, развивается митохондриальная дисфункция в клетках и митохондриальный оксидантный стресс, активация инфламмасом и гиперпродукция активных форм кислорода [58-60], что приводит к прогрессивному изменению функционирования всех систем организма [57, 61, 62, 63, 64, 65]. Основная причина воспалительного процесса нарушение аутофагии и дисфункция митохондрий в первую очередь из-за первичного дефекта гена *CFTR*, а также влияния комбинированных дефектов в связи с влиянием других генов [66, 67]. Окислительный стресс в легких при воспалении включает в реакцию нейтрофилы со свободными радикалами для борьбы с бактериями, но это ведет к повреждению органов дыхания и развитию осложнения: системного дефицита антиоксиданта глутатиона у больных МВ. Полагают, что возрастание оксидативной нагрузки, ассоциированное с иммунным ответом на инфекцию у пациентов с МВ, - важнейший фактор снижения функции легких у этой группы больных [42]. Глутатион-Б-трансферазы также изомеризуют

стероиды и простагландины, участвуют в биосинтезе и метаболизме лейкотриена C₄ и простагландина E₂ - провоспалительных медиаторов, обладающих хемотоксическим действием для нейтрофилов, и, возможно, изменение активности GST может влиять на развитие воспалительной реакции в бронхолегочной системе на различных этапах ее формирования [154]. Повторяющиеся эпизоды обострений инфекционного процесса, характерного при муковисцидоза, снижают адаптивные свойства организма, что приводит к хроническому воспалению, иммуносупрессии, развитию фиброза и остеопороза. Развитие воспалительного процесса при МВ объясняется генетической гетерогенностью заболевания и влиянием различных факторов (дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов, полиморфизмы генов TNFA, IL-1, RN, ИЛ-4, др), поэтому идентификация генов и механизмов взаимодействия патогенов в развитии клинической картины заболевания является главной задачей при решении вопросов совершенствования подходов к лечению данного заболевания и улучшения качества жизни пациентов.

1.3.3 Патологическая анатомия муковисцидоза

Патогенез муковисцидоза связан с взаимодействием нескольких факторов: *CFTR* мутаций, модифицирующих факторов в гене *CFTR* и/или других генах и влияния окружающей среды [2].

Пренатальная патологоанатомия легких плода при муковисцидозе не указывает на наличие изменений в трахеобронхиальных железах, постнатально изменения выявляются в первые дни жизни. У новорожденных прогрессивно развивается бронхит и бронхиолит в сочетании с обструкцией гнойными пробками, что приводит к развитию бронхоэктазов. С возрастом хронический воспалительный процесс и обострения инфекций в дыхательных путях приводят к паренхиматозным изменениям: пневмония, фиброз, облитерирующий бронхиолит, пневмоторакс, ателектаз и т.д. У 82% пациентов старше 20 лет при аутопсии выявляется пневмония [68]. Также в легких наблюдается эмфизема, разрывы плевральных булл могут приводить к пневмотораксу.

В связи с гипоксией прогрессируют изменения со стороны сердечно-сосудистой системы [68, 69, 70, 71]. У взрослых пациентов встречается кровохарканье в результате повреждения бронхиальных артерий.

Патологоанатомическую картину дополняет поражение экзокринной части поджелудочной железы с замещением ацинусов соединительной и жировой тканью и образованием кальцификатов, развитием фиброзно-кистозного хронического панкреатита либо липоматоза с атрофией ткани поджелудочной железы [72].

В печени патологический воспалительный инфильтративный процесс приводит к развитию мелкоузлового биллиарного цирроза [72]. В слизистой тонкого кишечника изменяется секрет бруннеровых желез и бокаловидных клеток. Вязкий секрет вызывает уплотнение, сгущение мекониальных и каловых масс, осложняясь стеатореей и копростазом, в результате чего может развиваться мекониальный илеус с изъязвлением, перфорацией стенки кишки и развитием перитонита. При тяжелом течении муковисцидоза у плода мекониальный илеус развивается внутриутробно.

Пациенты с муковисцидозом часто страдают бесплодием из-за поражения эпителия в репродуктивной системе. У мужчин семявыносящие протоки закрываются в результате фиброза. У женщин из-за вязкого секрета закупоривается цервикальный канал [73, 74].

При муковисцидозе у пациентов развивается остеопороз, в связи с синдромом мальабсорбции, дефицитом витамина Д3 и кальция, вынужденной гиподинамией, задержкой полового развития и тд., что приводит к частым переломам, деформациям костей [75-78].

1.4 Клиническая характеристика и осложнения при муковисцидозе

Муковисцидоз характеризуется широким спектром клинических проявлений. (таб. 3, 4). Обусловленные муковисцидозом нарушения в пораженных органах разнообразны как по степени тяжести, так и по скорости прогрессирования. Болезнь обнаруживается при рождении, чаще на 1-м году жизни, иногда в зрелом возрасте. В настоящее время существует классификация, принятая ВОЗ, Международной Ассоциацией Муковисцидоза, Европейской

Ассоциацией Муковисцидоза [26, 28, 53, 79, 80], она представлена в обновленных Клинических рекомендациях (2021):

1. Классический муковисцидоз с панкреатической недостаточностью (смешанная или легочно-кишечная форма заболевания) - E84.8;
2. Классический муковисцидоз с ненарушенной функцией поджелудочной железы (преимущественно легочная форма заболевания) - E84.0;
3. Неопределенный диагноз при положительном неонатальном скрининге на муковисцидоз - E84.9;
4. Заболевания, ассоциированные с геном *CFTR*:
 - изолированная обструктивная азооспермия;
 - хронический панкреатит;
 - диссеминированные бронхоэктазы.

Для своевременной диагностики муковисцидоза большую роль играет адекватная оценка физического развития в ходе диспансерного наблюдения детей и настороженность по муковисцидозу со стороны педиатров.

Таблица 3. Клинические проявления, требующие дифференциального диагноза с муковисцидозом [26, 53, 81]

Возраст	Симптомы и синдромы
Грудной	Респираторные симптомы, такие как кашель или одышка, пневмония, отставание в физическом развитии, неоформленный, обильный, маслянистый и зловонный стул, хроническая диарея, выпадение прямой кишки, затяжная неонатальная желтуха, соленый вкус кожи, тепловой удар или дегидратация при жаркой погоде, хроническая гипоэлектролитемия, данные семейного анамнеза о смерти детей на первом году жизни или наличие сибсов со сходными клиническими проявлениями, гипопропротеинемия / отеки, мекониевый илеус.

Продолжение таблицы 3

Дошкольный	Стойкий кашель с или без гнойной мокроты, диагностически неясная рецидивирующая или хроническая одышка, хронический гнойный/полипозно-гнойный синусит, отставание в весе и росте, выпадение прямой кишки, инвагинация, хроническая диарея, симптом «барабанных палочек», кристаллы соли на коже, гипотоническая дегидратация, гипоэлектролитемия и метаболический алкалоз, гепатомегалия или диагностически неясное нарушение функции печени.
Школьный	Хронические респираторные симптомы неясной этиологии <i>Pseudomonasaeruginosa</i> в мокроте, хронический синусит, назальный полипоз, бронхоэктазы, симптом «барабанных палочек», хроническая диарея, синдром дистальной интестинальной обструкции, панкреатит, выпадение прямой кишки, сахарный диабет в сочетании с респираторными симптомами, гепатомегалия, заболевание печени неясной этиологии.
Подростки и взрослые	Гнойное заболевание легких неясной этиологии, симптом «барабанных палочек», панкреатит, синдром дистальной интестинальной обструкции, сахарный диабет в сочетании с респираторными симптомами, признаки цирроза печени и портальной гипертензии, отставание в росте, задержка полового развития, инфертильность с азооспермией у лиц мужского пола, снижение фертильности у лиц женского пола.

Дети с МВ отстают в физическом развитии, часто болеют бронхолегочными заболеваниями, свойственна аллергия и патология со стороны желудочно-кишечного тракта. Установлено, что нарушение со стороны нутритивного статуса у больных МВ в России имеет высокую частоту, наиболее выражен у девочек в возрасте 4-6 лет, 9-14 лет и у мальчиков 10-18 лет [82]. По нутритивному статусу

возможно оценивать динамику заболевания у пациентов с установленным диагнозом муковисцидоз, ответ на проводимую терапию.

Таблица 4. Клинические проявления, характерные для муковисцидоза [53]

Высокоспецифичные	Менее специфичные
<p><u>Пищеварительный тракт:</u> Мекониевый илеус; Экзокринная недостаточность поджелудочной железы у детей</p>	<p><u>Пищеварительный тракт:</u> Отставание физического развития, гипопроteinемия, дефицит жирорастворимых витаминов, синдром дистальной интестинальной обструкции, ректальный пролапс, билиарный цирроз, портальная гипертензия, ЖКБ у детей без гемолитического синдрома, первичный склерозирующий холангит, экзокринная недостаточность поджелудочной железы у взрослых, рецидивирующий панкреатит.</p>
<p><u>Органы дыхания:</u> Хроническая инфекция; Вызванная мукоидной формой <i>Ps. aeruginosa</i>; Бронхоэктазы в верхних долях обоих легких; Персистирующая инфекции, вызванная <i>V. Serratia</i> Полипозногнойный синусит</p>	<p><u>Органы дыхания:</u> Хроническая или рецидивирующая инфекция, вызванная <i>S. aureus</i>, <i>s. aeruginosa</i>, <i>A. xilosoxidans</i>, <i>H. Influenzae</i>, рентгенологические признаки бронхоэктазов, ателектазов, гиперинфляции или хроническая инфильтрация на рентгенограмме органов грудной полости, кровохарканье, связанное с диффузным поражением легких, отличным от туберкулеза или васкулита, хронический и/или продуктивный кашель, аллергический бронхолегочный аспергиллез, хронический гнойный/полипозногнойный синусит, рентгенологические признаки хронического пансинусита.</p>

Продолжение таблицы 4

Синдром псевдо-Барттера; Синдром CBAVD	Утолщение концевых фаланг; остеопороз в возрасте в возрасте младше 40 лет ; муковисцидоз-ассоциированный сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе
---	--

В клинической картине муковисцидоза часто на первый план выходят изменения со стороны системы дыхания, происходит чередование обострений и ремиссий. Заболевание прогредиентно развивается, в связи с этим необходимо проводить исследование функции внешнего дыхания для оценки тяжести состояния здоровья пациента в динамике.

К методам функциональной диагностики относится спирометрия, методы вымывания инертных газов, бодиплетизмография, импульсная осциллометрия, исследование диффузной способности легких, методы оценки силы дыхательных мышц, нагрузочные тесты. Исследования проводятся специалистами на регламентированных приборах [83, 84].

Главным методом остается спирометрия, при которой определяется объем форсированного выдоха за первую секунду ОФВ1. для детей младше 5 лет не представляется возможность применения данного метода диагностики функции дыхания, они не могут произвести дыхательный маневр [85, 86].

Для оценки степени поражения бронхолегочной системы применяется лучевая диагностика, по выявленным результатам проводится коррекция лечения [86, 87].

Алгоритм лучевого обследования больных муковисцидозом с указанием частоты проведения:

1. Рентгенография органов грудной клетки в 2-х проекциях при первичном обращении не зависимо от возраста пациента, при отсутствии возможности выполнения КТ, основной метод обследования, выполняется 1 раз в 2 года, внеочередно при обострении;

2. Низкодозная компьютерная томография грудной клетки (предполагается протокол 1мА/кг для детей и молодых взрослых весом менее 50 кг в сочетании с напряжением в трубке 10кВ) - основной метод обследования, выполняется 1 раз в 2 года, дополнительно при обострении;

3. КТ-исследование «на выдохе» - для оценки проявлений бронхиальной обструкции (при невозможности выполнения КИФВД);

4. КТ-ангиография - для оценки состояния легочной артерии (ТЭЛА, ЛГ), бронхиальных артерий (поиск источника кровотечений)

5. МРТ органов грудной клетки (оценка воспалительных изменений в стенках бронхов и состояния бронхиальных артерий) - альтернатива КТ при невозможности ее выполнения;

6. Перфузионная сцинтиграфия (оценка перфузий в легочной ткани, перед трансплантацией);

7. Конусно-лучевая томография для оценки состояния околоносовых пазух (при первичном обращении, в последующем – 1 раз в 2 года);

8. Обзорная рентгенография живота при подозрении на наличие кишечной непроходимости (мекониевый илеус);

9. Ирригоскопия с использованием водорастворимых йодсодержащих контрастных препаратов (для оценки состояния толстой кишки) по показаниям;

10. УЗИ органов живота - основной метод контроля состояния паренхиматозных органов, выполняется 1 раз в год, при болях в животе;

11. Остеоденситометрия - 1 раз в 2 года.

Важным компонентом мониторинга состояния здоровья пациента является контроль за течением инфекционного процесса, так он является ведущим патологическим звеном, которое влияет на продолжительность жизни пациентов. В Клинических рекомендациях (2021) показана необходимость проведения исследования микробиоты дыхательных путей не реже 1 раза в 3 месяца, по показаниям и чаще с определением чувствительности к антибиотикам. Основной метод - культуральный посев респираторных образцов на селективные, неселективные, хромогенные питательные среды. Один раз в год целесообразно

проведение этих исследований в лабораториях экспертного уровня по МВ [88]. В таблице 4 показаны основные клинические симптомы муковисцидоза.

При МВ страдают верхние дыхательные пути, встречается нарушение слуха, поллиноз, аденоидные вегетации.

Хронический воспалительный бронхолегочный процесс запускает патологию со стороны сердечно-сосудистой системы пациента. Развивается легочная гипертензия, связанная с кистозным фиброзом, и хроническая сердечная недостаточность. К симптомам легочной гипертензии относятся одышка, сердцебиение, астения, синкопэ, боли в грудной клетке, могут быть боли в животе, вздутие, рвота, депрессия. Для диагностики применяется электрокардиография, эхокардиография, лучевая диагностика, определение биохимических маркеров (натрийуретический пептид, мозговой натрийуретический пептид, тропонин I) [89, 90].

Критерии диагностики легочной гипертензии: повышенное среднее давление в легочной артерии более 25 мм.рт.ст в покое по данным катетеризации правых отделов сердца [91]. Таким образом, необходимо назначение поддерживающей и специфической терапии при выявлении симптомов легочной гипертензии, основные терапевтические мероприятия должны быть направлены на лечение основного заболевания.

При муковисцидозе также наблюдается поражение поджелудочной железы - внешнесекреторной функции. Поджелудочная железа поражается уже внутриутробно, после рождения происходит дальнейшая закупорка каналов железы густым секретом, что приводит к фиброзу органа [28], специфичным является повышение иммунореактивного трипсина. Данный показатель применяется для ранней диагностики муковисцидоза в ходе неонатального скрининга. В результате нарушения переваривания и всасывания жиров и белков развивается задержка физического развития у детей. При наличии мягких мутаций IV-V класса сохраняется экзокринная функция. Таким образом, у больных муковисцидозом новорожденных детей с панкреатической недостаточностью можно выделить симптомы: повышенный аппетит, стеаторея, малая прибавка в

весе [92]. Для диагностики стеатореи и применяется определение фекальной панкреатической элластазы-1 [93].

При муковисцидозе развивается эндокринная недостаточность - муковисцидоззависимый сахарный диабет. Критерием диагностики считается гипергликемия натощак (уровень глюкозы плазмы натощак больше 7 ммоль/л [94]. Рекомендуется проводить целенаправленное мониторирование гликемии у пациентов с муковисцидозом. Муковисцидоз зависимый сахарный диабет встречается у пациентов с тяжелыми мутациями класса I-II (например - F508del) на фоне экзокринной панкреатической недостаточности [95, 96, 97, 98], данное состояние требует своевременной диагностики и назначения терапии, так способствует развитию жизнеугрожающих осложнений и сокращению продолжительности жизни пациентов.

Со стороны печени клинически наблюдается стеатоз и стеатогепатит, фиброз, билиарный цирроз печени. Поражение печени зависит от мутации в гене *CFTR* и действия генов-модификаторов, например, Z аллель гена *SERPINA1* и аллель *AVNT* Rv в геноме *eNOS4*, полиморфизм *5A/6A-1171 insA* гена *MMP3* [99]. Осложнения цирроза печени часто встречаются среди пациентов (варикозное расширение вен пищевода и желудка, спленомегалия, асцит, энцефалопатия и т.д., поэтому необходимо регулярное наблюдение у гастроэнтеролога, исследование биохимических показателей крови, ФГДС, коррекция терапии.

Клиническая картина со стороны желудочно-кишечного тракта проявляется стоматитом, кариесом зубов, мекониевым илеусом, синдромом дистальной интестинальной обструкции, запорами, синдром и избыточного бактериального роста, язвенное поражение желудка и двенадцатиперстной кишки. При МВ развитие мекониевого илеуса провоцирует модулированный локус хромосомы 19q13 (CFM1), гены-модификаторы Ca²⁺- активированный канал проводимости калия (KCNN4), маннозо-связывающий лектин (MBL), AТ α 1 [100, 101].

Среди осложнений муковисцидоза выделяют сольтеряющую форму муковисцидоза (синдром псевдо-Барттера) - происходит гипотония, задержка прибавки веса при адекватной терапии, рвота, диарея или задержка стула,

срыгивания. Диагноз ставится при выявлении любого сочетанного электролитного нарушения и метаболического алкалоза [102]. Лечение начинается с введения солевых растворов.

Муковисцидоз способствует риску возникновения уролитиаза, нефрокальциноза, амиллоидоза [103]. Наиболее частой причиной нарушения работы почек является применение нефротоксичных антибиотиков (аминогликозидов) [104]. Нефропатия при муковисцидозе поддается коррекции при применении мембраностабилизирующей терапии [105].

Остеопороз еще одно осложнение МВ, которое поражает костную систему, развивается вторично, проявляется остеопоротическими переломами костей, болями, деформациями скелета. С целью профилактики развития остеопороза пациентам дополнительно к получаемой терапии назначается витамин D, препараты кальция, физиотерапия [106].

Разнообразие вариантов нуклеотидной последовательности в гене *CFTR*, действие генов модификаторов, влияние факторов окружающей среды объясняет клиническую гетерогенность заболевания и разнообразие клинических проявлений.

Согласно Международной классификации болезней, опубликованной Всемирной Организацией Здравоохранения, муковисцидоз помещается в секцию «Эндокринные, нутриционные и метаболические болезни», часть 4 [WHO, 2001]. Классификация МВ содержит четыре части: E84.0: МВ с легочными проявлениями. E84.1: МВ с кишечными проявлениями. E84.8: МВ с другими проявлениями. E84.9: МВ неспецифичный. Повышенная концентрация хлоридов пота (>60 ммоль/л) или две идентифицированные мутации или положительный тест по измерению разности назальных потенциалов (в пределах от -40 до -90 мВ). Диагноз считается достоверным, если присутствует хотя бы по одному критерию из каждого блока. Сейчас эта классификация дополнена в связи с обнаружением вовлеченности гена *CFTR* в развитие различных клинических синдромов. Группу заболеваний, при которых наблюдается ряд симптомов, но не все одновременно, характерных для классического МВ, на совместном совещании Всемирной Организации

Здравоохранения, Международной Ассоциации по кистозному фиброзу (муковисцидозу) и Европейского тематического объединения по муковисцидозу в 2000 г., посвященном МВ [WHO, 2001], выделили в группу заболеваний, связанных с муковисцидозом (CF-related diseases). К таким заболеваниям отнесены врожденное двустороннее отсутствие семявыносящих протоков (CBAVD), обструктивная азооспермия, диссеминированные бронхоэктазы, диффузный бронхиолит, эмфизема легких, аллергический бронхолегочный аспергиллез, хронический панкреатит, диффузный панбронхиолит, склерозирующий холангит, неонатальная гипертрипсинемия. Часто больные, относящиеся к этому широкому спектру заболеваний, имеют одну «тяжелую» мутацию на одном CFTR аллеле. На втором аллеле, а может быть даже и на обоих, обнаруживается «мягкая» мутация, которая может быть специфична для данного заболевания [WHO, 2004]. Спектр этих мутаций соответствует спектру *CFTR* мутаций у больных МВ в соответствующей популяции. Но распределение *CFTR* мутаций у пациентов с заболеваниями, связанными с муковисцидозом, отличается от распределения мутаций при классическом МВ: «мягкие» мутации обнаруживаются с более высокой частотой, чем у пациентов с классическим муковисцидозом. В практике используется клиническая классификация муковисцидоза согласно Рабочей классификации муковисцидоза [28], рекомендаций ВОЗ и Европейской ассоциации муковисцидоза),

опубликовано-

https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/CF_consensus_2017.pdf

1.5 Диагностика муковисцидоза

1.5.1 Неонатальный скрининг на муковисцидоз

В 1979 г. команда исследователей из Новой Зеландии под руководством J. Crossley продемонстрировала повышение в плазме крови новорожденных с муковисцидозом иммунореактивного трипсина (ИРТ) [107]. Данное открытие легло в основу современного протокола неонатального скрининга заболевания. Ранняя диагностика дает возможность своевременно начать адекватную терапию, что ведет к значительному улучшению качества и продолжительности жизни больных. Кроме того, проведение неонатального скрининга и идентификация *CFTR* генотипа новорожденных с муковисцидозом предполагает более раннее генетическое консультирование пациентов, что может повлиять на репродуктивное поведение супругов и их родственников [82]. Диагноз МВ устанавливается согласно критериям клинических рекомендаций:

1. Положительная потовая проба, или подтвержденные две мутации в гене *CFTR*, вызывающие муковисцидоз, или положительный результат определения разности кишечных потенциалов/определения разности назальных потенциалов;
2. Неонатальная гипертрипсинемия или клинические признаки МВ или отягощенный семейный анамнез.

Иммунореактивный трипсин - маркер неонатального скрининга, в он норме выделяется в просвет кишечника из поджелудочной железы, при закупорке протоков вязкой слизью, которая происходит уже внутриутробно, у новорожденных отмечается повышение ИРТ в крови, что выявляется при неонатальном скрининге. Норма для ИРТ 21 -56 день -40 нг / мл. Важно учитывать применение в диагностике МВ показателя ИРТ возможно только в первые 56 дней жизни ребенка.

Неонатальный скрининг на муковисцидоз осуществляется как часть расширенного неонатального скрининга на распространенные наследственные

заболевания. Неонатальный скрининг на муковисцидоз в России проводится с 2000-х годов согласно Национальному проекту «Здоровье». Неонатальный скрининг на МВ включает несколько этапов.

Протокол неонатального скрининга на муковисцидоз в России включает четыре этапа: определение ИРТ в сухом пятне крови, ретест - повторное определение ИРТ в сухом пятне крови, потовый тест и ДНК-диагностику - причем только первые три являются обязательными. ДНК-диагностика доступна не для всех пациентов по различным причинам, в первую очередь это отсутствие государственного финансирования этого направления исследований [82].

На этапе подтверждающей диагностики МВ при выявлении высоких показателей ИРТ анализируют данные эластазы-1 в стуле пациентов, для выявления панкреатической недостаточности, что необходимо для контроля дозировки и эффективности терапии панкреатическими ферментами (рис. 5).

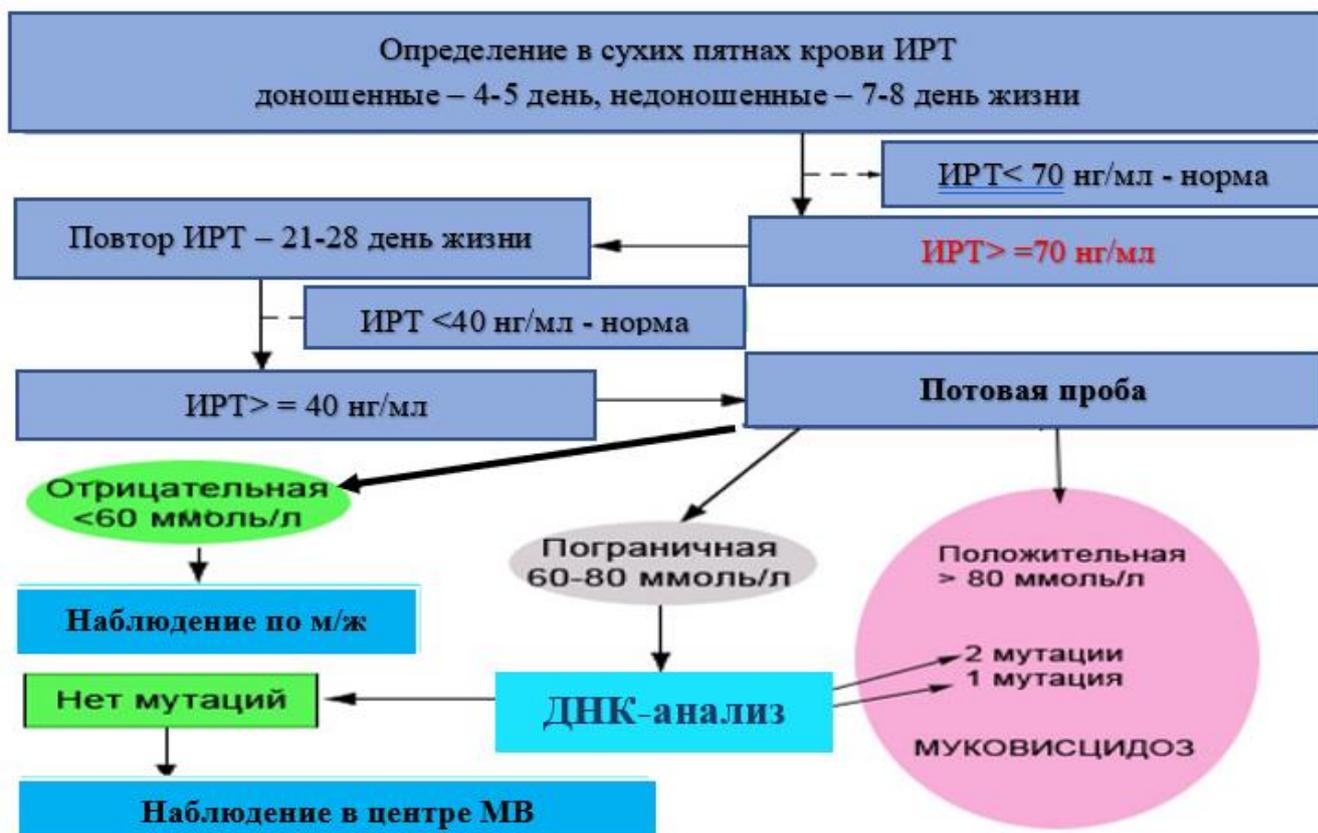


Рисунок 5 - Алгоритм неонатального скрининга в РФ.

По данным Европейского консенсуса, повышение показателя иммунореактивного трипсина в сухом пятне крови в неонатальном периоде встречается при перинатальном стрессе, гипербилирубинэмии новорожденных, при трисомиях 13 и 18 хромосом, у детей с врожденными инфекциями, почечной недостаточностью и атрезией тонкого кишечника, а также в случае нефрогенного несахарного диабета, гетерозиготные носители вариантов гена *CFTR* [107]. Популяционное распределение концентраций иммунореактивного трипсина в крови в период новорожденности несколько выше у детей североафриканского происхождения и у афроамериканцев [108, 109], чем у детей из Северной Европы, поэтому всем пациентам необходимо дообследование. В связи с этим биохимический скрининг в неонатальном периоде не является окончательным методом диагностики, тем не менее неонатальный скрининг на муковисцидоз оправдан, так как продолжительность жизни больных, выявленных с помощью скрининга, выше, чем у пациентов, у которых заболевание было установлено в более старшем возрасте.

Проблема разработки алгоритмов ранней диагностики муковисцидоза в последние десятилетия активно изучается. Понимание молекулярного механизма развития этого заболевания при различных вариантах мутаций в гене *CFTR*, позволяет сегодня достичь высоких результатов в реализации мероприятий, способствующих восстановлению функции дефектного белка *CFTR*. Поэтому для дальнейшего совершенствования оказания медико-генетической помощи пациентам необходимо провести комплексные исследования и выявить все закономерности его развития, чтобы эффективно развивать патогенетическую терапию, это шанс для больных на выздоровление.

Многочисленные результаты клинических исследований показали, что наибольший эффект от лечения достигается только у детей, в легких которых еще не успели развиваться необратимые патологические изменения, таким образом, стало ясно, что ранняя диагностика и терапия предотвращают развитие тяжелых проявлений заболевания. С целью раннего выявления муковисцидоза реализуется программа неонатального скрининга.

Благодаря развитию технологий ДНК-диагностики достигнут значительный прогресс в реализации программ скрининга новорожденных на муковисцидоз, поэтому ДНК-диагностика становится частью все большего числа стратегий диагностики этого заболевания в регионах Российской Федерации. В 2021 г. вышли Клинические рекомендации «Кистозный фиброз (муковисцидоз)». Большой раздел в них посвящен диагностике. Даны указания по исследованию хлоридов поте классическим методом пилокарпинового электрофореза по Гисону и Куку (1959): норма - менее 30 ммоль/л, пограничный показатель - 30 - 59 ммоль/л, положительный результат более 60 ммоль/л [53, 110]. При регистрации проводимости приборами Нанодакт, Макродакт результаты считаются в пределах нормы менее 50 ммоль/л, пограничный - 50 - 80 ммоль/л, положительный более 80 ммоль/л. Рекомендуется подвергать сомнениям результаты более 170 ммоль/л, в связи с дефектом в технике исследования [4].

Необходимо стремиться к полному генетическому обследованию больных, включая полногеномное секвенирование, MLPA анализ, проведение теста кишечных потенциалов больным, у которых не выявлены патогенные варианты гена *CFTR* стандартными методами.

Дополнительно целесообразно применение при диагностике МВ метода определения разности кишечных потенциалов и форсколинового теста на кишечных органоидах, получаемых из ректальных биоптатов пациентов, с целью обеспечить персонализированный подход при подборе *invitro* таргетной терапии всем пациентам с МВ, включая носителей редких генетических вариантов. Далее индивидуальный подбор диеты и ферментов, энтерального питания и гастростомы при необходимости, подбор антибактериальной терапии.

1.6 Современные подходы к терапии муковисцидоза

На современном этапе при подборе терапии для пациентов с МВ реализован персонализированный подход. Благодаря активному внедрению в практическую медицину современных высокотехнологичных методов диагностики,

идентификации причины заболевания- мутаций в гене *CFTR* и лечения МВ, в последние годы отмечается прогрессивное улучшение организации помощи больным муковисцидозом, что подтверждено увеличением продолжительности жизни пациентов, на фоне проводимых диагностических мероприятий частота выявления пациентов растет при успешном внедрении ранней ДНК-диагностики в совокупности с назначением своевременной терапии.

Лечение больных МВ необходимо обеспечить в специализированных центрах, где есть все профильные специалисты. Терапия МВ включает комплексную медицинскую помощь. Обязательны муколитическая терапия; антимикробная терапия; ферментотерапия препаратами поджелудочной железы; лечебная физкультура, физиотерапия, кинезитерапия; витаминотерапия; диетотерапия; лечение осложнений МВ.

Основной проблемой пациента с МВ является повышенная вязкость слизи, поражаются все железы внешней секреции, в следствии мукостаза возникает воспаление. Лечебные мероприятия при муковисцидозе включают в себя комплекс медикаментозного и немедикаментозного воздействия на патологический процесс. К методам относится: кинезиотерапия, задача которой удаление вязкого слизистого секрета из органов, их поддержание функции. Процедуры назначаются комплексно с медикаментозной терапией с момента установления диагноза. Применяется: постуральный дренаж, перкуссионный массаж грудной клетки, активный цикл дыхания, дренажные положения, аутогенный дренаж, дыхание с тренажерами, создающими положительное давление на выдохе, с контролем и регулированием давления, дренаж с применением приборов, неинвазивная вентиляция легких (при острой дыхательной недостаточности). Согласно Клиническим рекомендациям МВ (2021) в медикаментозный комплекс терапии входит: муколитическая, бронхолитическая, антибактериальная, таргетная терапия.

К муколитической терапии при МВ относится: дорназа альфа - ингаляционно в дозе 2,5-5 мг один раз в сутки. Это генно-инженерный муколитик, представляет собой рекомбинантную человеческую ДНКазу. Этот препарат обеспечивает снижение частоты обострений и улучшает вентиляционную функцию легких [11,

112, 113]. Препарат вводится с помощью небулайзера. Рекомендовано раннее назначение терапии препаратом дарназа-альфа. Гипертонический 7% и 0,1 % раствор хлорида натрия и 0,1 % раствор натрия гиалуроната, для ингаляционного применения по 5 мл. два раза в день. Применение маннитола в порошке через ингалятор. У детей с 6 лет по 400 мг два раза в сутки. Бронхолитическая терапия: N-ацетилцистеин, амброксол, назначается при наличии у пациентов бронхообструкции, перед применением антибиотиков, кинезиотерапии.

Антибактериальная терапия при муковисцидозе необходима из-за развития хронического бронхолегочного воспаления, дополнительно осложняется ситуация при присоединении вирусной инфекции. Главной микробной проблемой при муковисцидозе в начале заболевания является *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, далее присоединяется *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter* spp., *Staphylococcus aureus* (MRSA), нетуберкулезные микобактерии, грибы рода *Aspergillus*. Антибиотики назначаются согласно чувствительности выделенного микроорганизма и анализа эффективности ранее проводимой терапии. Пациентам назначают препараты и путь введения в соответствии с Клиническими рекомендациями МВ (2021). Применяется профилактическое назначение антибиотиков, при обострении воспаления, также используется длительная ингаляционная терапия препаратами тобрамицин, колистин, азтреонам. Применяются: аминогликозиды, пенициллины и цефалоспорины. Фармакокинетика антибиотиков у больных муковисцидозом изучается, дозировки и режимы введения препаратов разрабатываются согласно особенностям пенетрации в бронхиальный секрет, терапевтического эффекта [88].

Противовоспалительная терапия при муковисцидозе включает применение кортикостероидов, в том числе ингаляционных, в терапии легочной патологии, нестероидных противовоспалительных препаратов, антибиотиков, противовоспалительный эффект дарназы альфа, антогонистов лейкотриеновых рецепторов, ацетилцистеина, оксида азота, селективных стимуляторов гамма-рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARактиваторы), моноклональных антител, препаратов на основе каннабиноидов, иммунное

энтеральное питание. Исследования в области поиска воздействия на патогенез муковисцидоза направлены на выявление мишеней для купирования воспалительного процесса на клеточном уровне, в настоящее время применение широкого спектра доступной терапии не решает этот вопрос и поэтому продолжается работа по решению этой задачи, так это позволит повлиять на качество жизни пациентов.

Ферментная терапия препаратами поджелудочной железы применяется в связи с наличием внешнесекреторной недостаточности, которая проявляется у пациентов с рождения абдоминальным синдромом. Панкреатическая недостаточность коррелирует с мутациями в гене *CFTR*. Пациенты с двумя тяжелыми мутациями с рождения в клинике имеют кишечный синдром, выявляются в ходе проведения неонатального скрининга. При наличии в генотипе хотя бы одной мягкой мутации и, поджелудочная железа сохранна, с этим связано дозирование ферментов при различных мутациях. Эффективность заместительной терапии отслеживают по количеству каловых масс, их консистенции, уменьшению жира в кале, увеличению индекса массы тела ребенка. Для лечения муковисцидоза необходимо применение микросферических заместительных ферментов [114]. Диета и витаминотерапия при муковисцидозе играет очень важное значение в комплексном лечении пациентов. Потребность энергии у детей с муковисцидозом выше. Калорийность суточного рациона рассчитывается на вес ребенка на момент исследования [115]. В настоящее время активно применяются программы оценки питания и ферментной терапии - мобильные приложения, которые могут использовать как врачи, так и пациенты.

Применяется трансплантация легких. Типы хирургического лечения муковисцидоза: двусторонняя трансплантация легких, односторонняя трансплантация легких, двусторонняя лобарная сплит трансплантация легких, лобарная трансплантация от живого донора, трансплантация сердечно-легочного комплекса, комбинированная легочная и печеночная трансплантация.

Таргетная терапия включает применение CFTR-модуляторов - первого и второго поколения. Препарат «ивакафтор+лумакафтор», первый

зарегистрированный в РФ таргетный препарат для лечения муковисцидоза. Применяется у пациентов-гомозигот по мутации F508del в гене *CFTR*. В состав таблетки входит лумакафтор - 200 мг, ивакафтор - 125 мг, принимается по 2 таблетки 2 раза в сутки, каждые 12 часов. Препарат предназначен для пациентов старше 2-х лет. Действие лекарства обусловлено улучшением конформационной стабильности F508del-CFTR в итоге происходит улучшение процессинга и миграции зрелого белка к поверхности клеток, а ивакафтор является активатором CFTR канала, который обеспечивает транспорт ионов хлора за счет улучшения способности белка CFTR к открытию каналов на клеточной мембране. В ходе клинических испытаний этот препарат показал низкую эффективность, однако, доказано, что терапия препаратом «ивакафтор+лумакафтор» эффективнее при исходном уровне ОФВ₁,% 40-90% (+2,9%, P<0,001) [116]. Вариант с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F), который образует комплексный аллель с мутацией F508del, приводит к устойчивости к таргетной терапии лумакафтор+ивакафтор [117, 118], поэтому у всех пациентов гомозигот F508del/F508del необходимо идентифицировать наличие комплексного аллеля.

Среди препаратов эффективно применяемых для лечения пациентов с муковисцидозом потенциатор ивакафтор. Он показан пациентам с мутацией G551D, которая ограничивает работу хлорного канала. Ивакафтор улучшает способность канала к раскрытию [116], у пациентов, принимающих данный лекарственный препарат, отмечается снижение показателя хлоридов поте до 21 mEq/L, отмечается улучшение со стороны функции органов дыхания - увеличение ОФВ₁,% на 10,6% от исходных показателей, улучшается нутритивный статус пациентов [119].

Самый эффективный CFTR-модулятор МНН: «элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор» - эффективный препарат, применяется у пациентов с 2х лет с мутациями, встречающимися в 90% случаев. Эффективен при наличии в генотипе пациента патогенных вариантов гена CFTR (компаунд-гетерозиготность F508del)/другая мутация (177 вариантов), меняет конфигурацию дефектного белка CFTR в результате увеличения количества белка CFTR в

правильном положении на клеточной поверхности, далее ивакафтор открывает хлоридные каналы, что увеличивает транспорт хлоридов и снижает вязкость слизи. Выпускается в виде саше с гранулами и таблеток для приема внутрь.

Таким образом, этиопатогенетическая фармакотерапия муковисцидоза активно развивается, разрабатываются и проходят клинические испытания новые модуляторы, такие как дейтерированный ивакафтор, усилители-амплификаторы - РТI-428 и другие [121]. Проводятся дополнительные исследования, чтобы понять перспективное воздействие новых лекарств на организм пациента. Несмотря на достигнутые успехи в изучении патогенеза, диагностики и лечения МВ продолжается поиск звеньев молекулярного патогенеза заболевания, разрабатываются новые подходы к терапии и алгоритмы ДНК диагностики, оптимальные для отдельных регионов мира и генетически дифференцированных популяций. Терапия муковисцидоза направлена на предотвращение развития каскада патологических реакций организма, вызванных дефектным белком CFTR, приводящим к обширному воспалительному процессу во всем организме и полиорганной недостаточности. Панкреатическая недостаточность компенсируется заместительной терапией микросферическими ферментами, потреблением высококалорийной, богатой белками и жирами диетой. Комплексное лечение болезни легких, обусловленной муковисцидозом, нацелено на улучшение работы мукоцилиарного клиренса бронхиального дерева, профилактику инфицирования, санацию и подавление хронической бактериальной инфекции и местного хронического воспаления, стимуляцию иммунного ответа, дренаж густой слизи и тд. [42]. Ведущие специалисты во всем мире ищут способ исправить генетический дефект, изыскания ведутся в двух направлениях: генная терапия (в том числе и замена гена) и фармакогенетика.

На сегодняшний день перспективным является развитие таргетной терапии муковисцидоза, которая применяется с учетом с учетом эффекта мутаций. Различают генную терапию и терапию, направленную на коррекцию функциональных нарушений гена *CFTR*. Выделяют несколько классов препаратов [42]:

1. CFTR-модуляторы восстанавливают дефектный белок CFTR, фармакологическое модулирование ионного транспорта происходит с помощью модуляторов CFTR - корректоров и потенциаторов [42]. Потенциаторы - мишень препаратов молекулы поврежденного белка CFTR, расположенные в апикальной мембране эндотелия. Действие потенциаторов направлено на восстановление (активацию) функции ионного канала, образованного мутантным белком CFTR (мутации III-IV классов): генистин, VX-770 [42, 126, 127]. Корректоры – лекарственные препараты, позволяющие мутантному белку CFTR пройти через систему внутриклеточного качественного контроля и занять правильное расположение (мутации II класса): фенилбутират/генистин, куркумин, аналог силденафила KM11060, VX-809 [29]. Вещества, способствующие «прочитыванию» стоп кодонов с CFTR mRNA и предотвращению преждевременной терминации синтеза молекул белка, используются при лечении пациентов, имеющих нонсенс мутации (мутации I класса) - Аталурен (PТС124).

2. Препараты для первого класса мутаций - вещества, способствующие «прочитыванию» стоп-кодонов в CFTR-mRNA, предотвращению преждевременной терминации синтеза молекулы белка CFTR, способные изменить дефектный белок. Исследуется молекула PТС124 (аталурен), аминогликозидные антибиотики (при мутациях I типа), фенилбутират натрия, циклопентилксантин [42].

3. Препаратов для второго класса мутаций и наиболее часто встречающейся мутации F 508del - вещества должны нормальное сворачивание белка и подавлять дегенерацию белка на мембране клеток. Корректоры + Потенциаторы: «Ивакафтор+Лумакафтор», «Тезакафто+Ивакафтор/Ивакафтор»), «Элексакафтор+Тезакафтор+Ивакафтор/Ивакафтор») [42, 149, 150, 151]

4. Препараты для «мягких» мутаций. Потенциаторы хлорных каналов [42].

5. Препараты работающих при всех классах мутаций. Активаторы альтернативных хлорных каналов: кальций-зависимый и P2Y-рецептор; аниофоры.

6. Персонализированная терапия для пациентов с муковисцидозом с очень редкими мутациями. Благодаря современным методам молекулярной диагностики

муковисцидоза выявляется большое число ранее неизвестных и редких мутаций. Пациенты с чрезвычайно редкими мутациями гена CFTR никогда не смогут получить доступ к таргетному лечению. В связи с этим Европейским сообществом создана медицинская информационная технология лечения муковисцидоза. В основе ее лечения лежит следующий подход: стволовые клетки из кишечника пациентов будут выращены в «мини-кишке» (органоидах) с помощью технологий HubrechtOrganoidTechnology. Органоиды будут использоваться для подбора препаратов пациентам с муковисцидозом в лабораториях Нидерландов (Утрехт), Бельгии (Левен) и Португалии (Лиссабон) [42, 152].

7. В настоящее время разрабатываются методы генной терапии, например, средство доставки гена 4DMT: 4D-710 - адаптированный вектор аденоассоциированного вируса (AAV), терапия с помощью РНК-технологий [42], рекомбинантные векторы аденоассоциированного вируса rAAV является самым перспективным для генной терапии, долгие годы проводятся исследования в этом направлении, но добиться существенного улучшения функции легких пока не удалось [153]. Данная методика предусматривает ингаляционное введение препарата.

8. Геномное редактирование, в том числе с помощью CRISPR Cas9, является перспективным направлением в поиске подходов для этиотропного лечения муковисцидоза. На стадии разработки сейчас методы доставки мРНК, инкапсулированной в наночастицы. Проводится клиническое испытание CF на фазе 1-2 для тестирования доставки препарата под названием MRT5005, который использует липидные наночастицы для доставки мРНК, кодирующей полноразмерный CFTR, в легкие CF через небулайзер (NCT03375047; <https://www.cff.org/Trials/Pipeline/details/10157/MRT5005>). Таким образом, LPN-опосредованная доставка мРНК Cas9 для редактирования генов легких *in vivo* может стать возможной [153]. Применение современной ДНК-диагностики для пациентов с муковисцидозом обеспечивает возможность для создания эффективной патогенетической терапии для каждой группы больных, в том числе с редкими патогенными вариантами нуклеотидных последовательностей.

Муковисцидоз из числа первых заболеваний, для которого начались разработки генной терапии, проводятся революционные исследования по терапии с помощью РНК-технологий, таргетному редактированию гена *CFTR* с помощью CRISPR/Cas9, которое открывает новые возможности для этиотропного лечения, так как позволяет исправить мутации в клетках [148], такие технологии активно развиваются недавно создан новый метод генного редактирования CRISPR/Cas9 с использованием белка NmeCas9. Но полная замена мутантного гена нормальной копией пока невозможна, так как возникает иммунная реакция в организме, однако, идентифицированы малые молекулы, способные модифицировать мутантный белок *CFTR* таким образом, что его функция приближается к нормальной. Возможности применения таргетной терапии в настоящее время является горячей темой для обсуждения [42], по этой причине полное определение спектра мутаций в гене *CFTR*, расширение возможностей ДНК-диагностики необходимо для оптимизации медико-генетической помощи населению и внедрения новых лекарственных средств в терапию больных муковисцидозом. Оказание медицинской помощи пациентам с МВ необходимо реализовывать с учетом региональных особенностей течения заболевания, спектра, частот, класса мутаций в гене *CFTR*.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика выборки исследования

Исследование одобрено Биоэтическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет», протокол № 11 от 16.12.2020 г. Все пациенты и здоровые доноры подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта».

Дизайн исследования представлен на рисунке 6.

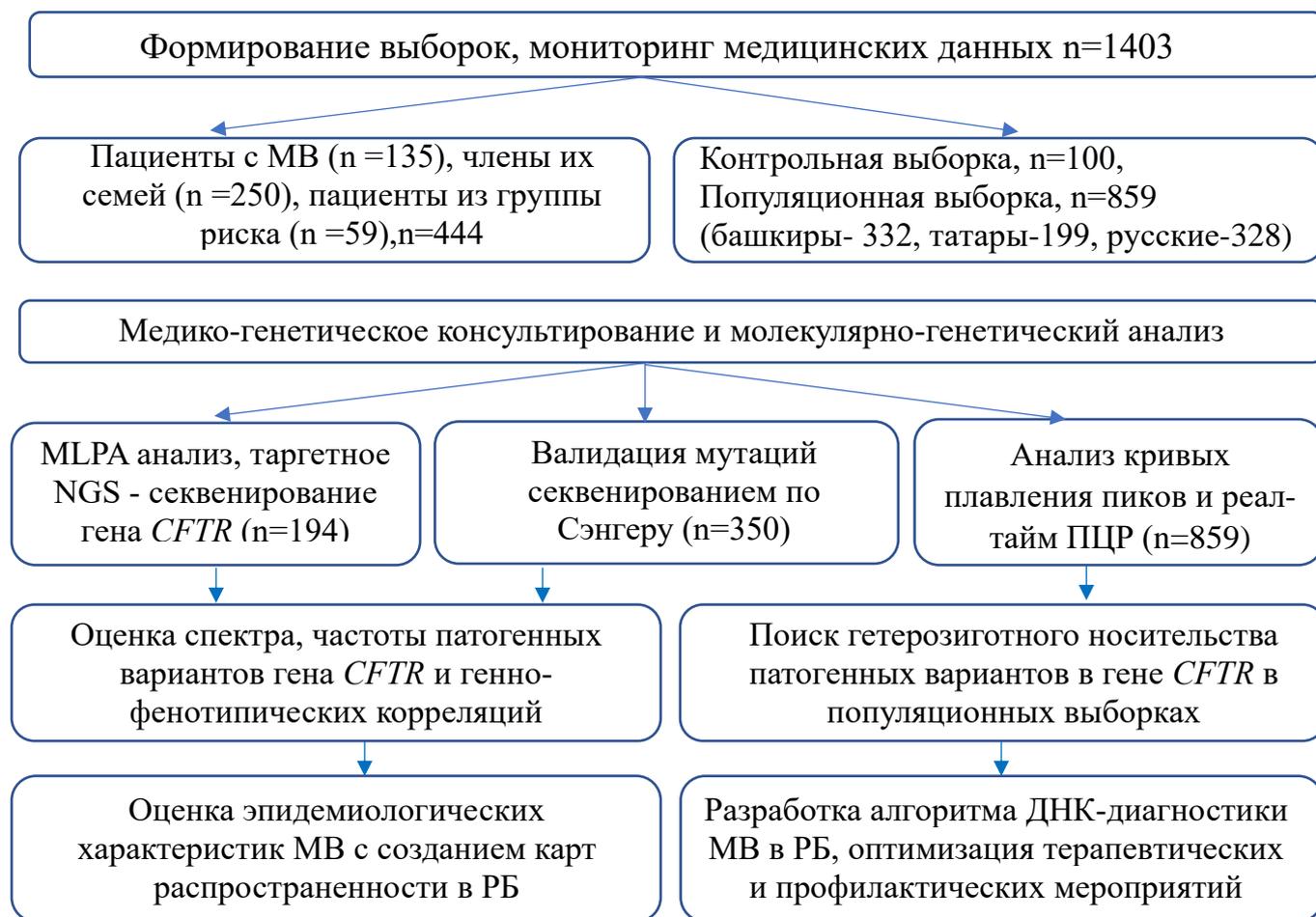


Рисунок 6 - Дизайн исследования.

В основе исследования лежит комплексный подход, который позволяет рассматривать вопросы организации медицинской помощи пациентам с МВ в условиях быстроразвивающихся знаний о данном заболевании с учетом возможностей системы практического здравоохранения.

На первом этапе проведен мониторинг медицинских документов 294 человек (135 пациенты с МВ, 59 пациенты из группы риска по МВ, 100 -контрольная выборка), популяционная выборка: n=859 человек (башкиры – 332, татары – 199, русские – 328). Всего в выборку вошли n=1403 человек. Все образцы были собраны в период с 1998 по 2023 год.

Этнический состав пациентов установлен на основе анкетирования и информации о происхождении до третьего поколения. На основе полученной информации и ДНК-анализа все идентифицированные мутации были распределены по хромосомам в соответствии с этническим происхождением родителей, даже в случае метисного брака и проведен анализ частот и спектра мутаций в каждой этнической группе пациентов с муковисцидозом из РБ, выявлено гетерозиготное носительство мутаций в гене *CFTR* в отягощенных семьях (рис. 7). На основе полученной информации и анализа ДНК методом секвенирования по Сэнгеру все выявленные мутации были распределены по хромосомам в соответствии с этническим происхождением родителей, даже в случае смешанного брака, и был проведён анализ частот и спектра мутаций с учётом этнического происхождения хромосомы с выявленной мутацией. Образцы, взятые у братьев и сестёр пациентов, также были изучены методом секвенирования по Сэнгеру.

Для постановки диагноза использовались клинические рекомендации «Муковисцидоз», утвержденные Министерством здравоохранения Российской Федерации: классический муковисцидоз с недостаточностью поджелудочной железы (смешанная или легочно-кишечная форма заболевания, код по МКБ-10 E84.8), классический муковисцидоз с сохраненной функцией поджелудочной железы (преимущественно легочная форма заболевания, код по МКБ-10 E84.0), неопределенный диагноз при положительном неонатальном скрининге на муковисцидоз (E84.9), заболевания, связанные с геном *CFTR*: изолированная

обструктивная азооспермия, хронический панкреатит и диссеминированный бронхоэктаз. При анализе состояния здоровья оценивали срок установления диагноза, уровень хлоридов в поте при проведении потового теста, результаты микробиологических исследований, функцию внешнего дыхания, осложнения течения МВ у пациентов.

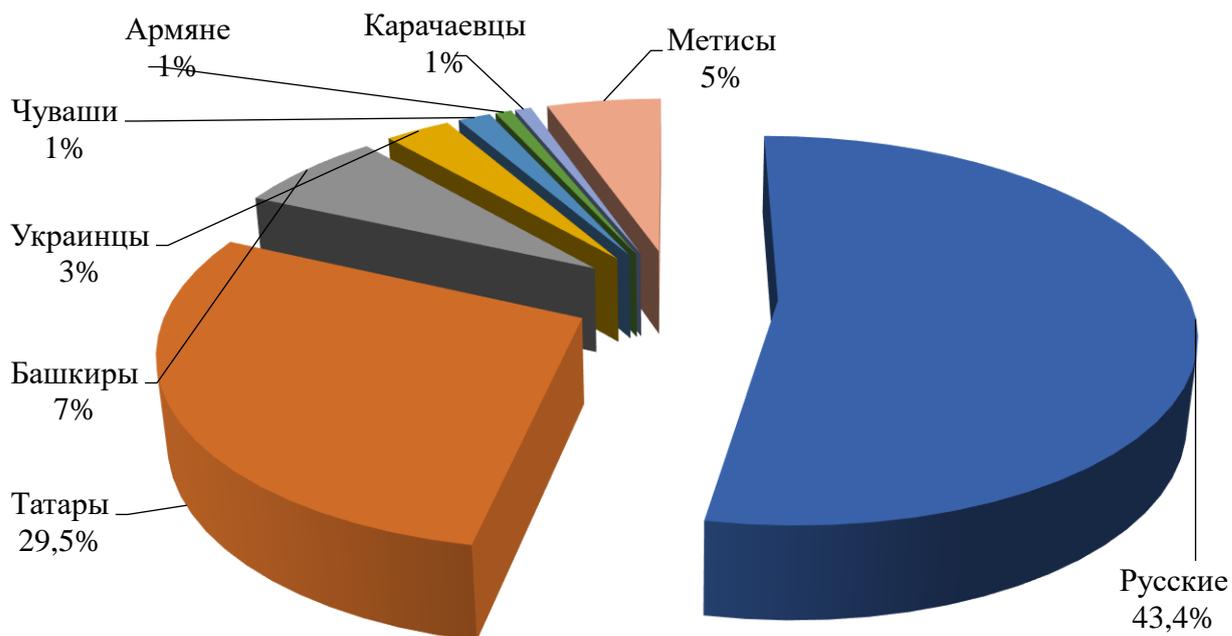


Рисунок 7 – Распределение семей с муковисцидозом по этническому происхождению.

Состояние и функцию легких определяли по показателю форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ, %) и объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1, %). Исследования проводили в соответствии с критериями ERS/ATS в группе детей, способных сделать дыхательный маневр при проведении спирометрии. Микробиологические исследования флоры дыхательных путей сделаны в центральных бактериологических лабораториях. Хронический высев диагностировали согласно клиническим рекомендациям [122, 123].

Были собраны образцы венозной крови 135 пациентов из 129 семей из Республики Башкортостан, а также 250 членов их семей (родителей и братьев с сестрами). В пяти семьях были обследованы двое детей. Наибольшее количество

семей были русского происхождения (43,4%), за ними следовали татары (29,5%). Следующими по распространённости были смешанные браки, в основном между русскими и татарами (9 семей) и татарами и башкирами (5 семей), а также несколько случаев браков между русскими, узбеками, поляками, белорусами, чувашами, татарами и башкирами.

Таким образом, исследованы выборки - $n = 444$ человек (пациентов с МВ - 135, члены их семей - 250, пациенты из группы риска - 59) и контрольная выборка $n = 100$ человек. Всем исследуемым определен уровень хлоридов в поте (потовые пробы проводились на приборе для сбора и анализа проводимости пота «Nanoduct» - классический метод индукции пота посредством ионофореза пилокарпина, который сопровождается анализом концентрации электролитов с помощью сенсора проводимости). В ходе проведения неонатального скрининга измерение человеческого иммунореактивного трипсина (ИРТ) в образцах пятен цельной крови, собранных с использованием фильтровальной бумаги (Schleicher and Schuell's #903), проводился методом иммуноферментного анализа на оборудовании Wallak (Финляндия). Измерение флюоресценции проведено на приборе Виктор-2.

Критерии включения пациентов в исследование: уровень хлоридов в поте (прибор Нанодакт): пограничный - 50 - 80 ммоль/л, положительный более 80 ммоль/л; высокие показатели иммунореактивного трипсина (ИРТ) при анализе данных неонатального скрининга (ИРТ на 4-5 день у доношенных новорожденных и на 7-8 день у недоношенных новорожденных – норма менее 70нг/мл, ретест на 21 - 56 день норма менее 40 нг/мл). Критерии исключения: нормальные показатели хлоридов в поте менее 50 ммоль/л. Отказ пациента или его родителей от участия в исследовании.

Дополнительно подготовлена популяционная выборка из 859 человек (332 башкир, 199 татар, 328 русских (дисперсные выборки из РБ)). Этнический состав пациентов установлен на основе анкетирования и информации о происхождении до третьего поколения.

На втором этапе проведено выделение геномной ДНК из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции с помощью мини-набора QIAamp DNA Blood (Qiagen) и разведена в воде. Количество ДНК доводили до 10 нг за реакцию, концентрацию проверяли с помощью флуорометра Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Inc.).

Третий этап: тестирование отобранных образцов ДНК (n = 1403). MLPA анализ, таргетное NGS - секвенирование гена CFTR n=194 – пациенты с МВ – 135 человек, пациенты из группы риска - 59 человек, валидация мутаций секвенированием по Сэнгеру n=350 – членам семей пациентов с МВ - 250 человек, контрольная выборка – 100 человек, анализ кривых плавления пиков и реал-тайм ПЦР n=859 – популяционная выборка.

Тестирование образцов ДНК проведено с помощью коммерческого набора SALSA MLPA (SALSA MLPA Probemix P091 CFTR, MRC Holland). Анализ фрагментов проводился на генетическом анализаторе с проведением капиллярного электрофореза (3500xL, AppliedBiosystems, США). Проведено таргетное высокопроизводительное секвенирование (NGS) гена CFTR (набор ParseqLab, Россия) на платформе Illumina (MiSeq, США) с валидацией результатов секвенированием по Сэнгеру (3500XL, AppliedBiosystems, США). Скрининг гетерозиготного носительства мутаций в популяциях осуществлен с применением методов анализа кривых плавления пиков и реал-тайм ПЦР (собственные разработки и тест-системы АО «Вектор Бест») (Приложение А, рис. 11).

Генетические варианты, выявленные у отдельных лиц, оценивались с точки зрения их влияния на структуру и/или функцию белка с использованием различных инструментов и баз данных биоинформатики (Annovar, SIFT, Mutation Tester, MutPred; 1000Genomes, Exome Aggregation Consortium, dbSNP, HGMD и др.). Патогенность выявленных вариантов оценивалась на основе рекомендаций по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования согласно стандартам и рекомендациям по интерпретации вариантов последовательностей: совместная консенсусная рекомендация Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии. Статистическую

обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft).

На четвертом этапе проведена оценка спектра и частоты патологических вариантов в гене *CFTR*, генно-фенотипических корреляций, а также поиск гетерозиготного носительства патологических вариантов в гене *CFTR*. Дополнительно организовано медико-генетическое консультирование пациентов и их семей, в том числе оценка риска МВ и дородовая диагностика в отягощённых семьях.

На пятом этапе выработан алгоритм ДНК-диагностики муковисцидоза в РБ с учетом региональных особенностей, применен персонализированный подход к ведению пациентов с МВ и их семей. Результаты медико-генетического тестирования доведены до пациентов, назначена таргетная терапия согласно критериям по лечению дорогостоящими препаратами Фонда «Круг добра», с последующим проведением мониторинга состояния здоровья пациентов.

Шестой заключительный этап включал эпидемиологическое исследование с оценкой распространенности МВ в целом, и в отдельных городах и районах РБ с составлением карт распространенности.

Исследования по теме «Эпидемиологические, клинико-генетические аспекты муковисцидоза в Республике Башкортостан» осуществлено на базе кафедры медицинской генетики и фундаментальной медицины Института последипломного образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет», Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2019 по 2023 год. Для анализа частоты вариантов *CFTR* в популяциях использовали материал, собранный в ФГБУН Институте биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук за период 1998-2023 гг. Объем исследования и дизайн в соответствии с задачами научной работы указаны в Таблице 5.

Таблица 5. Объём исследования и дизайн в соответствии с задачами научной работы

№ п.п.	Задача научного исследования	Материалы и характеристика выборки	Кол-во пациентов/ исследований	Методы исследования
1.	Анализ состояния здоровья больных МВ в РБ, оценка генетических, клинико-лабораторных особенностей течения муковисцидоза у больных в РБ	Мониторинг медицинских данных пациентов за период наблюдения МВ в РБ 1998 - 2023 и данных Национального регистра больных муковисцидозом РФ	444 пациенты с МВ, члены семей, пациенты из группы риска за период наблюдения 1998 - 2023 гг.	проспективный анализ
2.	Формирование коллекции ДНК пациентов с МВ и членов их семей, пациентов из группы риска. Исследование и поиск патогенных вариантов в гене	Данные подтверждающей ДНК-диагностики (MLPA); NGS - секвенирование всех экзонов гена <i>CFTR</i> . Валидация мутаций в гене <i>CFTR</i> секвенированием по	1403	Одномоментное (анализ индивидуальных данных)

	<i>CFTR</i> с применением современной ДНК диагностики.	Сэнгеру) пациентов с МВ, члены семей, пациенты из группы риска за период наблюдения с 1998 по 2023 года.		
3.	Оценка спектра и частоты мутаций в гене <i>CFTR</i> и анализ клинико-генетических корреляций	Данные ДНК-диагностики контрольной группы и пациентов с МВ с «тяжелым» и «мягким» генотипами	98	Одномоментное
4.	Верификация выявленных мутаций в гене <i>CFTR</i> и определение гетерозиготного носительства у членовотягощенных семей в РБ	Выявлены 35 патогенных вариантов в гене и комплексный аллель с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F) в гене <i>CFTR</i> : <i>F508del E92K</i> , <i>CFTRdele2-3 3849+10kbC>T L138ins</i> , <i>N1303K S1196X</i> , <i>394delTT</i> p. [S466X; R1070Q] <i>G194R</i> , <i>G551D</i> p.[<i>G509D</i> ; <i>E217G</i>] <i>2184delA</i> , <i>621+1G>T L1335P(c.4004T>C)</i> <i>R117C</i> , <i>W19G</i> , <i>S737F</i>	444	Одномоментное (анализ индивидуальных данных)

		<p><i>2143delT, D1152H</i> <i>1717-1G>A,</i> <i>c.2353C>T</i> <i>1525-1G>A, 1367del5</i> <i>4015delA, 2184insA</i> <i>Y84X, c.3883_3888dup</i> <i>3041-15T>G, W1282X</i> <i>12TG5T, W1310X</i> <i>W1282R, 3821delT</i> <i>CFTRdup6b-10</i></p>		
5.	<p>Оптимизация алгоритма ДНК-диагностики МВ с применением персонализированного подхода лечения пациентов с МВ в РБ</p>	<p>Определение региональных особенностей - 15 вариантов нуклеотидной последовательности, варианты в гене <i>CFTR</i>: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC->T (4,64%), CFTRdele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT (1,55%), S1196X (1,16%); p. [S466X; R1070Q](1,16%);</p>	444	Одномоментное

		E217G;G509D (1,16%); 2143delT (1,16%), Y84X (1,16%), W1282X (1,16%), G194R (0,77%), 1525-1G>A (0,77%), суммарная частота их составила 90,26%, комплексный аллель с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F) - 8,11 %.		
6.	Оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий с применением персонализированн ого подхода	Внедрена модель персонализированного подхода: диагностика и назначена таргетная терапия.	98	Одномоментн ое (анализ индивидуальн ых данных)
7.	Эпидемиологическо е исследование с оценкой распространенности в целом, и в отдельных городах и районах РБ	Составление карт распространенности муковисцидоза в РБ.	98	Одномоментн ое (анализ индивидуальн ых данных)

На 31.12.2023 г. с подтвержденным диагнозом муковисцидоз, установленном на основании клинической картины и данных положительной потовой пробы и/или

генетического исследования, на диспансерном наблюдении находились 98 пациента.

2.2 Материалы исследования

Работа выполнялась с 2019 по 2023 гг. в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, ректор – д. м. н., академик РАН, профессор - В.Н. Павлов), на кафедре медицинской генетики и фундаментальной медицины института последипломного образования ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (руководитель - д.б.н., Р.И. Хусаинова), клиническая база: ГБУЗ РМГЦ.

Изучены медицинские документы пациентов с МВ (n=294), наблюдавшихся за период с 1998 по 2023 годы, регистр муковисцидоза РБ сформирован с учетом показателей уровня хлоридов в поте и данных неонатального скрининга. Критерии включения пациентов: уровень хлоридов в поте (прибор Нанодакт): пограничный - 50 - 80 ммоль/л, положительный более 80 ммоль/л; высокие показатели иммунореактивного трипсина (ИРТ) при анализе данных неонатального скрининга (ИРТ на 4-5 день у доношенных новорожденных и на 7-8 день у недоношенных новорожденных - норма менее 70нг/мл, ретест на 21 - 56 день норма менее 40 нг/мл). Критерии исключения: нормальные показатели хлоридов в поте менее 50 ммоль/л. Отказ пациента или его родителей от участия в исследовании. Пациенты с МВ (n =135), члены их семей (n =250), пациенты из группы риска (n =59) - выборка 444-человек. Кроме этого, использованы выборки контроля (n=100) и популяционная выборка из 859 человек (332 башкир, 199 татар, 328 русских (дисперсные выборки из РБ). ДНК 1403 человек, выделенная из венозной крови. Венозная кровь собрана в пробирки-вакутейнеры с антикоагулянтом (ЭДТА, глюцицир) в количестве 8 мл., условия хранения: при температуре +4°C.

2.3 Общеклинические методы

Проведен анализ данных: пол, возраст, место проживания, проводимую терапию, время манифестации заболевания, возраст постановки диагноза, форму заболевания, тяжесть течения, показатели ФВД (ФЖЕЛ и ОФВ), результаты посева мокроты, наличие в анамнезе меконияльного илеуса. Состояние и функцию легких определяли по показателю форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ,%) и объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1,%). Исследования проводили в соответствии с критериями ERS/ATS в группе детей, способных сделать дыхательный маневр при проведении спирометрии. Микробиологические исследования флоры дыхательных путей сделаны в центральных бактериологических лабораториях. Хронический высев диагностировали согласно клиническим рекомендациям [122, 123]. Потовые пробы проводились на приборе для сбора и анализа проводимости пота «Nanoduct» - классический метод индукции пота посредством ионофореза пилокарпина, который сопровождается анализом концентрации электролитов с помощью сенсора проводимости. Результаты неонатального скрининга проанализированы в ходе мониторинга показателя иммунореактивного трипсина в капиллярной крови новорожденных, исследование проводилось в лаборатории ГБУЗ РМГЦ.

2.4 Эпидемиологические методы исследования

В ходе эпидемиологического исследования определены показатель распространенности МВ в Республике Башкортостан, территориальные особенности, в том числе половой и возрастной состав пациентов. Численность населения Республики Башкортостан на 01.01.2023 г. составляет 4 077 600 человек, из них 1 925 912 мужчины и 2 151 688 женщин. Этот регион соединяет европейскую часть России с Сибирью и Центральной Азией и является важным перекрёстком для активной трудовой миграции. Плотность населения составляет 28,08

человек/км² (2021 г.). На территории Башкортостана проживают представители 160 национальностей и 13 этнических групп, составляющих население; наиболее многочисленными этническими группами остаются русские (36%), принадлежащие к славянской группе индоевропейской языковой семьи, башкиры (29,5 %) и татары (25,4 %), принадлежащие к тюркской группе алтайской языковой семьи соответственно. Далее следуют чувашаи (2,7%), марийцы (2,6%), украинцы (1%), удмурты (0,5%), мордва (0,5%) и белорусы (0,3%).

Статистические данные получены на официальном сайте Территориального органа Федеральной службы государственной статистики по РБ [<https://02.rosstat.gov.ru/>]. Распространенность заболевания (частота муковисцидоза) вычислялась по формуле: «(Число первичных обращений по поводу заболевания, выявленных в данном и предыдущие годы/средняя численность населения) x 1000». Информация о частоте встречаемости МВ представлена в соответствии с отчетами Государственного Казенного Учреждения Здравоохранения РБ Медицинский информационно-аналитический центр. Карта распространенности МВ составлена с применением программного ресурса Ms Paint 3D.

2.5 Молекулярно-генетические методы исследования

2.5.1 Выделение геномной ДНК

Геномную ДНК выделяли из периферической венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Преимущества данного метода в том, что ДНК получается хорошей концентрации и качества. Данный метод подходит для разных объектов и хорошо работает со старым, разложившимся материалом; выделенная ДНК хорошо хранится в замороженном состоянии и очень стабильна. Кровь собираем в пробирки объемом 8 мл с антикоагулянтом (ЭДТА, глюгицир). После взятия образца кровь в пробирке тщательно перемешиваем и храним в охлажденном состоянии (+4°C).

Используется набор реагентов для выделения геномной ДНК из клинических образцов. Лизирующий раствор по ТУ 9398-336-23548172-2012 «Вектор - Бест» (Россия). Номер регистрационного досье: РД-16557/84372 от 20.03.2017 г. Вид медицинского изделия 152850У. Класс потенциального риска применения медицинского изделия 1. Код Общероссийского классификатора продукции для медицинского изделия 93 9816.

Сформирована коллекция ДНК пациентов, страдающих МВ, на основе биобанка Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук» с использованием модульного комплекса учета и хранения образцов биоматериалов «LiCONiCSTC» (фирма «Liconic», Лихтенштейн).

2.5.2 Секвенирование по Сэнгеру

Секвенирование по Сэнгеру (1977) – классический метод, который используется для определения последовательности нуклеотидов исследуемой ДНК, который считается наиболее точным, и на сегодня является золотым стандартом диагностики наследственных заболеваний. После подготовки ДНК для подтверждения выявленных мутаций было проведено секвенирование по Сэнгеру с использованием набора для циклического секвенирования BigDye Terminator v3.1 на генетическом анализаторе 3500xL (Applied Biosystems, Уолтем, Массачусетс, США).

2.5.3 Массовое параллельное секвенирование нового поколения (NGS)

NGS - секвенирование нового поколения (next generation sequencing) - группа методов определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для получения формального описания её первичной структуры. Технология методов секвенирования нового поколения позволяет «прочитать» одновременно сразу

несколько участков генома, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования. NGS осуществляется с помощью повторяющихся циклов удлинения цепи, индуцированного полимеразой, или многократного лигирования олигонуклеотидов. В ходе NGS могут генерироваться до сотен мегабаз и гигабаз нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл.

Регистрационное удостоверение на медицинское изделие от 22 сентября 2020 Г. № РЗН 2020/9943. Набор VariFind™ CFTRsolution: комплект таргетного обогащения гена *CFTR* (экзоны, сайты сплайсинга и известные глубокие интронные мутации); комплект для секвенирования (IlluminaMiSeq); контрольный образец; ПО VariFindCFTRsoftware; доступно 3 комплектации: 24, 96 и 384 реакции.

Использованием ПО VariFind™ CFTRsoftware обеспечивается: идентификация более 200 клинически-значимых вариантов CFTR, включая CFTRdele2-3 и poly-T/TG; идентификация редких и ранее не известных вариантов; ссылки на внешние источники аннотации; автоматический контроль качества образца, включая определение пола и контаминацию; формирование и экспорт медицинского заключения с комментариями врача; гибкий поиск. Ход работы производится в соответствии с протоколом исследования. Клинически значимые варианты, проаннотированные в VariFind™ CFTRsoftware: 177 патогенных и вероятно-патогенных вариантов из национального консенсуса по муковисцидозу за 2019 год (включая CFTRdele2,3); 8 гаплотипов poly-T/TG (включая дикий тип 11TG7T); 3 глубоких интронных варианта из статьи A. Bergougnoux (2019 г.); 4 глубоких интронных варианта из статьи M. Lucarelli (2017 г.); 26 патогенных вариантов, обнаруженных у пациентов из Москвы, Санкт-Петербурга, Уфы. Секвенирование проведено на генетическом секвенаторе MiSeq. Производитель: Иллюмина, Инк., США, Illumina, Inc., 5200 Illumina Way, San Diego, CA 92122, USA. Номер регистрационного досье № РД-1636/28329 от 13.09.2013. Класс потенциального риска применения медицинского изделия 2а. Код общероссийского классификатора продукции для медицинского изделия 94 4310.

2.6 Биоинформатический и статистический анализ результатов

При оценке варианта на патогенность анализируется информация о гене и заболевании в целом - механизм, частота и распространенность заболевания, характер наследования (аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, X-сцепленный или вариант *denovo*), пенетрантность и экспрессивность гена, функциональные области и т.д. Также осуществляется поиск описания клинической значимости данного варианта в научной литературе, в специализированных базах данных. Также для определения клинической значимости варианта используются различные предсказательные программы.

Для анализа результатов NGS секвенирования использовалось программное обеспечение «VariFind». Генетические варианты, выявленные у индивидуумов, были оценены с точки зрения их влияния на структуру и/или функцию белка с использованием различных инструментов биоинформатики и баз данных (AnnoVar, SIFT, Mutation Tester). MutPred; 1000 геномов, Консорциум по агрегации экзонов, dbSNP, HGMD и др.). Патогенность выявленных вариантов оценена на основе рекомендаций по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования. Объем терапии проанализировали совместно с параметрами, предоставленными в Национальном регистре больных МВ РФ и данными республиканской информационно-аналитической программы РБ.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft) и SPSS. Анализ полученных данных проводилось с учетом объема выборки и распределения данных с применением непараметрических критериев χ^2 с поправкой Йейтса. В рамках параметрической статистики данные записывались как среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD) или медиана (Me) - интерквартильный размах; в рамках непараметрической статистики. Применяется линейный корреляционный анализ. Значение при $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Данный анализ применялся при сравнении детей и взрослых на общей группе пациентов (98 пациентов).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Эпидемиология муковисцидоза в Республике Башкортостан

Частота МВ в РФ варьирует в широких пределах (от 1:2500 до 1:12000 новорожденных) в зависимости от региона, существуют особенности распространения муковисцидоза не только в регионах, но внутри них, что связано с численностью, этническим составом, миграцией населения [28]. На этапе внедрения доклинических методов выявления МВ практическое значение приобретает решение вопроса об эпидемиологических особенностях распространения МВ в РБ. Численность населения РБ на 01.06.2023 г. составляла 4077600 человек, количество пациентов с муковисцидозом - 98 человек, распространенность заболевания - 0,024 на 1000 населения, частота муковисцидоза 1 на 35000 новорожденных.

В РБ среди пациентов с МВ 57,1% женщины, а по данным регистра МВ РФ 2021 по стране больше пациентов мужского пола 51,8%. В регионе регистрируется увеличение доли взрослых пациентов, страдающих муковисцидозом (в 2023 г. доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет 25,5%, в 2019 г. - 21,5%), увеличение, в связи с внедрением в практическое здравоохранение современной диагностики и эффективного лечения.

Из 54 административных районов Республики Башкортостан пациенты диагнозом муковисцидозом выявлены в 20, наибольшая распространенность в Бижбулякском - 0,140 ‰, Буздякском - 0,059‰, Иглинском - 0,057‰, Стерлитамакском - 0,53‰, Шаранском - 0,053 ‰.

Необходимо отметить Уфимский район - 37 пациента с МВ, в связи с высокой численностью населения частота заболевания низкая. Вероятнее всего увеличение численности пациентов с муковисцидозом в Уфимском, Стерлитамакском, Мелеузовском районах связано с преобладанием среди популяции славянских народностей и высокой плотностью населения, по сравнению с другими районами (таб. 6).

Таблица 6. Заболеваемость муковисцидозом в РБ

№ п.п.	Район РБ	Количество пациентов, абс.	Частота МВ, ‰
1.	Абзелиловский	0	0
2.	Альшеевский	0	0
3.	Архангельский	0	0
4.	Аскинский	0	0
5.	Аургазинский	0	0
6.	Баймакский	0	0
7.	Бакалинский	0	0
8.	Балтачевский	0	0
9.	Белебеевский	3	0,016
10.	Белокатайский	0	0
11.	Белорецкий	1	0,005
12.	Бижбулякский	3	0,140
13.	Бирский	1	0,008
14.	Благоварский	0	0
15.	Благовещенский	1	0,010
16.	Будякский	1	0,059
17.	Бураевский	0	0
18.	Бурзянский	0	0
19.	Гафурийский	0	0
20.	Давлекановский	0	0
21.	Дуванский	0	0
22.	Дюртюлинский	0	0
23.	Ермекеевский	0	0
24.	Зианчуринский	0	0

Продолжение таблицы 6

25.	Зилаирский	0	0
26.	Иглинский	4	0,057
27.	Илишевский	1	0,032
28.	Ишимбайский	0	0
29.	Калтасинский	1	0,046
30.	Караидельский	0	0
31.	Кармаскалинский	0	0
32.	Кигинский	0	0
33.	Краснокамский	0	0
34.	Кугарчинский	0	0
35.	Кушнаренковский	1	0,037
36.	Куюргазинский	2	0,024
37.	Мелеузовский	7	0,037
38.	Мечетлинский	0	0
39.	Мишкинский	0	0
40.	Миякинский	0	0
41.	Нуримановский	0	0
42.	Салаватский	1	0,042
43.	Стерлибашевский	0	0
44.	Стерлитамакский	25	0,053
45.	Татышлинский	0	0
46.	Туймазинский	4	0,013
47.	Уфимский	37	0,025
48.	Учалинский	1	0,014
49.	Федоровский	0	0
50.	Хайбуллинский	0	0
51.	Чекмагушевский	1	0,036

Продолжение таблицы 6

52.	Чишминский	0	0
53.	Шаранский	1	0,053
54.	Янаульский	2	0,023
Всего		98	

Неоднородное территориальное распределение пациентов с МВ наглядно демонстрирует карта распространённости заболевания (рис. 8).

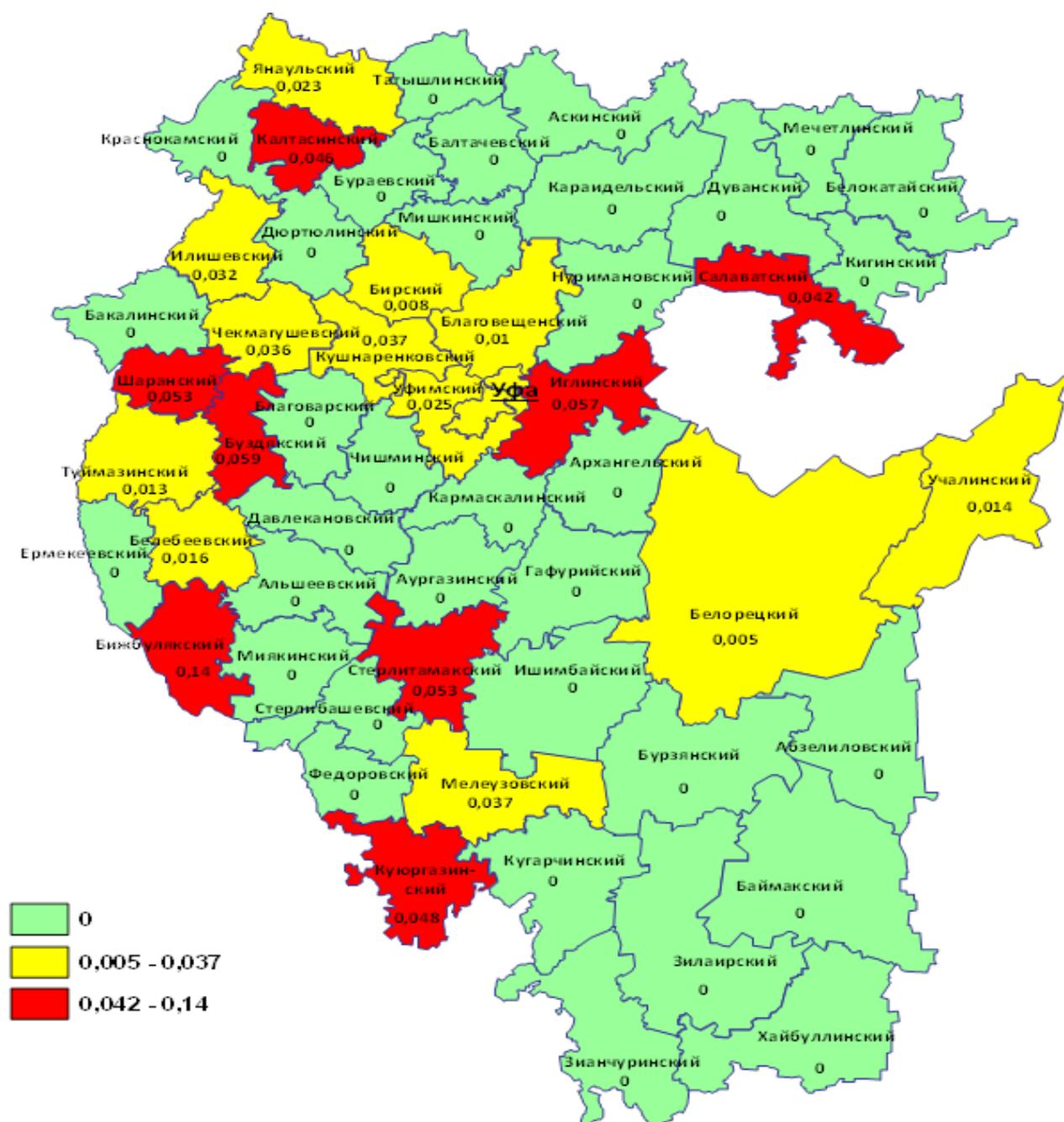


Рисунок 8 - Карта распространённости муковисцидоза в РБ.

По данным Башстат в Уфимском, Стерлитамакском, Шаранском районах преобладает население славянской этнической принадлежности, видимо с этим связано большая заболеваемость муковисцидоза в данных территориях и в смежных с ними районах, в связи с миграцией населения. Статистические данные получены на официальном сайте Территориального органа Федеральной службы государственной статистики по РБ [<https://02.rosstat.gov.ru/>].

Заключение. В настоящее время в мире муковисцидозом страдает около 100 000 людей [124], распространяется заболевание неравномерно, в Европе - от 1 на 1350 в Ирландии до 1 на 25000 новорожденных в Финляндии [124]. Выявленная частота встречаемости МВ в Республике Башкортостан составила 1 на 35000 новорожденных, что меньше средней распространенности по стране (от 1:2500 до 1:12000 новорожденных), в среднем в год в России рождается 150 человек с МВ [126]. Частота встречаемости МВ в РБ 0,024 на 1000 населения - ниже распространенности по РФ (0,027 на 1000 населения), что связано с многочисленностью народов тюркского происхождения, для которых МВ не является частым заболеванием. Среди больных с МВ в РБ преобладают пациенты женского пола, хотя по данным регистра МВ в РФ в целом - больше пациентов мужского пола. При анализе распространенности в районах республики отмечается выраженная территориальная неоднородность. В совокупности из этого следует, что необходимо вести эпидемиологический мониторинг заболевания с применением единых методов диагностики.

3.2 Клинико-лабораторная характеристика муковисцидоза в РБ

В РБ к 2023 г. состоит на учете с МВ 98 человек. Анализ демографических данных за период с 2019 по 2023 гг. в РБ показал рост заболеваемости МВ, это связано с доступностью диагностических мероприятий, в том числе с применением ДНК-диагностики. За период с 2019 г. по 2023 г. количество пациентов с подтвержденным диагнозом МВ в РБ увеличилось с 86 до 98 человек, частота заболевания составила 0,021 и 0,024 на 1000 населения, соответственно (таб. 7).

Таблица 7. Заболеваемость муковисцидозом в РБ и в РФ в 2023г.

№ п.п	Название	Численность, абс.	Число больных, n	Взрослые		Частота, на 1000 населения
				абс.	%	
1.	Республика Башкортостан	4 077 600	98	25	25,5	0,024
2.	Российская Федерация	146 630 227	3969	1089	27,4	0,027

Высокий охват неонатальным скринингом необходим для обеспечения ранней диагностики МВ. При проведении неонатального скрининга за период 2006 - 2023 гг.. 48 (88,9%) больным диагностирован МВ, тогда, как всего за этот период диагноз МВ установлен 55 пациентам. Таким образом, даже при высоком охвате неонатальный скрининг не позволяет выявить всех пациентов на раннем этапе диагностики, поэтому необходимо сохранение настороженности среди педиатров, так как возможна поздняя манифестация заболевания. Охват неонатальным скринингом в РБ за период с 2019 по 2023 гг.. составил 99,7%, в ходе которого диагноз МВ установлен: в 2019 г. - 2, 2020 г. - 2, 2021 г. - 1, 2022 г. - 1, 2023 г. - 1 пациенту, всего 7 случаев МВ.

По результатам нашего исследования ещё 5 пациентам установлены мутации в гене *CFTR* (ранее наблюдались с неподтвержденным диагнозом).

При анализе клинических данных учитывается своевременность диагностики заболевания, как фактора, влияющего на продолжительность жизни пациентов (таб. 8). Средний возраст постановки диагноза в РБ и РФ - $3,3 \pm 6,0$, медиана - 0,5(0,2-3,3) лет и $3,6 \pm 6,1$, медиана - 0,4(0,1-2,9) лет, соответственно.

Средний возраст пациентов в РБ составляет $14,7 \pm 9,6$, медиана – 12,5(7,2-20,3) лет данные по РФ - $13,7 \pm 9,7$ года, медиана - 11,4(6,3-18,7) лет. Доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет по данным регистра МВ по РФ - 26,5%, в Республике Башкортостан - 25,5%. Самому взрослому пациенту в РБ 42 года, в РФ - 63 года.

Все пациенты наблюдаются в Центре муковисцидоза, на современном этапе отмечается сокращение сроков установки диагноза. Положительным потовым тестом на аппарате Nanoduct считались показатели: 80 и более ммоль/л, пограничные значения: от 50 до 80 ммоль/л. При выявлении пограничных показателей, пациентам проводилась ДНК-диагностика по оптимизированному нами алгоритму. Минимальный возраст установления диагноза при рождении, максимальный в 32 года.

Таблица 8. Демографические и диагностические показатели у пациентов с МВ

№ п.п.	Показатель	РБ	РФ [29]
1.	Общее число, абс., М/Ж	98 42/56	3722 1935/1787
2.	Живые, n Летальный исход, n	98 2	3722 32
3.	Возраст, годы		
3.1.	М ± SD, годы Me, годы	13,9±9,1 12,6	13,7±9,7 11,4
3.2.	Доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет, %	25,5	26,5
4.	Возраст установления диагноза, год		
4.1.	М ± SD, годы Me, годы	3,3±6,1 0,5	3,6±6,1 0,4
5.	Мекониевый илеус		
5.1.	всего, n(%)*	0,98	8,9
5.2.	Оперирован, n(%)*	0,98	14,9
5.3.	Не оперирован, n(%)*	0	1,0
6.	Неонатальный скрининг		
6.1.	Охват в 2023, n(%)	99,7	80,2

Для оценки тяжести течения муковисцидоза проведен мониторинг данных инфицирования бронхолегочного тракта у пациентов из РБ (таб. 9). Определен микробиологический статус, который у пациентов из РБ соответствует российскому, статистически значимая частота выявлена при хроническом инфицировании *Pseudomonas aeruginosa* выше и составила - 42,4%, в РФ этот показатель ниже - 34.1%, а, к примеру, инфицирование *Staphylococcus aureus*,

MRSA, интермиттирующий высев ниже в сравнении с российским. Микробиологическое исследование мокроты и определение антибиотикочувствительности необходимый критерий для назначения специфической антибиотикотерапии при муковисцидозе.

Таблица 9. Спектр возбудителей инфекции у больных МВ в РБ и РФ в 2022 г., %

№ п/п	Возбудитель инфекции	Распространенность, %	
		РБ	РФ
1.	Staphylococcus aureus, монокультура,	48,8	63,1
2.	MRSA	1,0	3,1
3.	Pseudomonas aeruginosa, хр. инфицирование, монокультура	42,4	34,1
4.	Интермиттирующий высев	12,5	16,9
5.	Burkholderia ceracia complex	4,1	5,1
6.	Stenotrophomonas maltophilia	3,3	5,3
7.	Achromobacter spp.	7,5	7,6
8.	Неферментирующие бактерии	12,8	11,3
9.	Нетуберкулезные микобактерии	0,3	1,7

К одним из параметров состояния здоровья пациентов с МВ относится респираторная функция по данным спирометрии, в таблице 10 представлены средние показатели ($M \pm SD$) функции внешнего дыхания пациентов в возрасте старше 5 лет в РБ и РФ. В Республике Башкортостан среди 98 пациентов 73 дети, пациенты старше 18 лет - 25 человека. Статистически показатели ОФВ1, % и ФЖЕЛ, % соответствуют данным по России. Самый высокий охват данным исследованием в РБ отмечается среди детей в возрасте с 6 до 18 лет. Спирометрия проводилась согласно стандарту ERS/ATS, должна быть доступна всем пациентам с муковисцидозом, так этот метод отражает эффективность проводимой терапии.

В РБ ОФВ1,% и ФЖЕЛ% у детей были $80,1 \pm 26,7\%$ и $84,5 \pm 21,6$, соответственно. Медианы (IQR): 81,5 (35,6) 86,0 (28,0) 81,6 (35,2) У взрослых $70,3 \pm 22,6\%$ и $87,1 \pm 20,7$ соответственно, медианы (IQR): 60,0 (41,4) и 77,5 (34,4).

Показатели по РФ ОФВ1,% и ФЖЕЛ% у детей - $86,1 \pm 22,6$ и $88,8 \pm 20,7$, медианы(IQR): 87,0 (27,0) и 90,0 (22,3), соответственно, у взрослых - $61,0 \pm 26,8$ и $78,4 \pm 23,4$, медианы (IQR): 60,0 (41,4) и 77,5 (34,4), соответственно.

Таблица 10. Функция внешнего дыхания у больных муковисцидозом по данным спирометрии у пациентов в РБ и РФ в 2022 г.

№ п.п.	Возраст пациентов	Параметры	РБ	РФ
1.	Пациенты до 18 лет M±SD	абс.	65 из 73	2735 из 3722
		ОФВ1, %	$80,1 \pm 26,7$	$86,1 \pm 22,6$
		ФЖЕЛ, %	$84,5 \pm 21,6$	$88,8 \pm 20,7$
2.	Взрослые M±SD	абс.	6 из 25	987 из 3722
		ОФВ1, %	$70,3 \pm 22,6$	$61,0 \pm 26,8$
		ФЖЕЛ, %	$87,1 \pm 20,7$	$78,4 \pm 23,4$

В регионах Российской Федерации в программу неонатального скрининга подтверждающая ДНК-диагностика не входит, поэтому сроки установления диагноза увеличиваются для пациентов. В РБ нам удалось внедрить алгоритм ранней ДНК- диагностики МВ. При проведении неонатального скрининга в РБ мы столкнулись рядом проблем, которые усложняют диагностику МВ, приведем клинические примеры.

Клиническое наблюдение № 1

Ребенок М, 2016 г.р. выявлен МВ в ходе неонатального скрининга: иммунореактивный трипсин на первом этапе 96 нг/мл, ретест 101,6 нг/мл. Показатели хлоридов в поте 96; 91 ммоль/л. В возрасте 2-х месяцев ребенку установлен диагноз: МВ, смешанная форма. в 2020 году проведена подтверждающая ДНК-диагностика выявлены мутации в гене *CFTR* F508del/L138ins. Ребенок получает лечение.

В семье есть сибс, 2014 г.р. (на момент обследования жалоб на здоровье у родителей по ребенку, 2014 г.р., не было), в ходе неонатального скрининга диагноз не установлен, так как иммунореактивный трипсин на первом этапе 41 нг/мл (норма), но в связи с тем, что в семье есть пациент с муковисцидозом, проведена потовая проба: 91 ммоль/л, 88 ммоль/л. Проведена ДНК-диагностика выявлены мутации в гене *CFTR* F508del/L138ins. Ребенок получает лечение.

При выявлении ложноотрицательных показателей неонатального скрининга на МВ требуется проведение определения показателей хлоридов в поте и активности панкреатической эластазы-1 кала пациентам сотягощенным семейным анамнезом.

Клиническое наблюдение № 2

Ребенок А, 2006 г.р. Муковисцидоз не выявлен в ходе неонатального скрининга: иммунореактивный трипсин на первом этапе 56 нг/мл. В возрасте 8 лет меняется регион проживания, семья переезжает в Республику Башкортостан. В 2014 г. ребенок госпитализируется в ГБУЗ РДКБ г. Уфа с жалобами на периодический сухой кашель, боли в животе, аллопецию, слабость. Ребенок астенического телосложения. В рамках полного обследования проведены потовые пробы, которые составили 59 ммоль/л, 67 ммоль/л, определен уровень панкреатической эластазы 1 кала - 50мкг/г (при норме более 200 мкг/г). Установлен диагноз: МВ, смешанная форма. В 2019 году проведена подтверждающая ДНК-диагностика выявлены мутации в гене *CFTR* 3849+10kbC>T/Y84X. Ребенок получает лечение, отмечается положительная динамика, прибавка в весе.

Пограничные показатели потовых проб свойственны для варианта 3849+10kbC>T, поэтому при наличии клинической картины и пограничных показателей хлоридов в поте необходимо проведение подтверждающей ДНК-диагностики.

Учитывая это, мы исследовали пациентов с пограничными показателями хлоридов (50 – 60ммоль/л) у 6 пациентов диагноз МВ подтвердился в ходе ДНК-диагностики.

Клиническое наблюдение № 3

Ребенок К, 2018 г.р. – неонатальный скрининг не проводился, ребенок родился в тяжелом состоянии, получал инфузионную терапию, оперативное лечение по поводу перитонита. В данной ситуации неонатальный скрининг недостоверен. При рождении ребенку диагностирован мекониевый илеус, экстренно госпитализируется в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, в ходе обследования установлен диагноз: Муковисцидоз, смешанная форма. При анализе ДНК выявлены патогенные варианты гена CFTR F508del/621+1G>T.

Мекониевый илеус является высокоспецифичным клиническим проявлением муковисцидоза [2], в случае рождения ребенка с такой тяжелой патологией необходима подтверждающая ДНК-диагностика на МВ. В нашем исследовании мы провели ДНК-диагностику новорожденному (умер в возрасте 7 суток) с мекониевым илеусом, родители пациента обследованы дополнительно, однако диагноз муковисцидоз не подтвердился.

Клиническое наблюдение № 4

Ребенок И, 2010 г.р., Ребенок, А, 2013 г.р. Роды в другом субъекте, после рождения детей родители переехали в РБ, данных неонатального скрининга нет. С жалобами на частые бронхолегочные заболевания обратились на консультацию к генетику в 2021 г. Проведено исследование хлоридов в поте, показатели превышали 88 ммоль/л, 82 ммоль/л соответственно. Проведена подтверждающая ДНК-диагностика, выявлен генотип: E92K/3849+10kbC>T. Установлен диагноз: Муковисцидоз, смешанная форма. Назначено лечение, пациенты наблюдаются в центре муковисцидоза.

Мониторинг неонатального скрининга должен включать преемственность в работе медицинских организаций, в том числе, на уровне субъектов, чтобы результаты его были доступны в случае переезда пациентов. Таким образом, для эффективной диагностики и лечения муковисцидоза при наличии клинической картины необходимо назначить пациенту исследование хлоридов в поте с

дальнейшей подтверждающей ДНК-диагностикой согласно современной стратегии молекулярно-генетической диагностики муковисцидоза.

3.3 Молекулярно-генетический ландшафт муковисцидоза в РБ

ДНК-диагностика муковисцидоза проводилась в РБ с конца 90-х годов прошлого века на базе лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УФИЦ РАН. В последующем с 2019 г. по 2023 г. молекулярно-генетические исследования с использованием технологии массового параллельного секвенирования (NGS) проведены в ГБУЗ РМГЦ. В данной работе мы обобщили все результаты ДНК-диагностики с 1998 г. по 2023 г., определили спектр и частоты патогенных вариантов в гене *CFTR*, специфичных для отдельных этнических групп региона, оценили результаты динамического наблюдения пациентов из группы риска с не идентифицированными мутациями, выявили носителей среди членов семей с идентифицированными вариантами, провели анализ эпидемиологических данных, клинико-генетических корреляций, лабораторно-инструментальных характеристик, определили генетическую архитектуру заболевания, идентифицирован МВ у 135 человек из 129 семей, в 6 семьях было 2-е больных детей, систематизированы данные в рамках регистра пациентов с муковисцидозом РБ.

Обнаружены 35 вариантов в гене *CFTR*. Мутация F508del преобладающая по частоте в когортах пациентов русского, татарского, башкирского, украинского и армянского происхождения. Анализ данных всех членов семей позволил идентифицировать прохождение хромосом с мутациями и в метисных семьях, обе мутации выявлены у 96,12% семей (124/129).

Наиболее частыми являются 15 мутаций в гене *CFTR*: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC->T (4,64%), *CFTR*dele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT (1,55%), S1196X (1,16%), p. [S466X; R1070Q] (1,16%), p.[G509D; E217G] (1,16%), 2143delT (1,16%), Y84X (1,16%), W1282X (1,16%), G194R (0,77%), 1525-1G>A (0,77%), суммарная частота их составила 90,26%. Остальные 12

мутации являются единичными и не являются регион специфичными, таким образом, экзоны 4 и 11, интрон 22, делеции 2 и 3 экзонов гена *CFTR* необходимо анализировать в первую очередь. Спектр и частота мутаций в гене *CFTR* в РБ отличается от общероссийских показателей [29, 37], где наиболее распространенными являются варианты F508del (51,55%), E92K (3,46%), 3849+10kbC>T (2,22%), CFTRdele2-3 (6,11%), L138ins (1,64%), N1303K (0,85%). Значимые различия обнаружены в частотах мутаций F508del, E92K, CFTRdele2.3, Y84X, 1525-1G>A, 2184insA, W1282R и комплексного аллеля p.[G509D; E217G] (таб. 12). Впервые в Республике Башкортостан определена частота комплексных аллелей p.[S466X; R1070Q] (1,16%), p.[G509D; E217G] (1,16%), и значимого для назначения таргетной терапии при муковисцидозе аллеля F508del; L467F у 74 из 129 пациента с генотипом F508del/F508del.

Таблица 12. Спектр и частота патогенетических изменений нуклеотидной последовательности гена *CFTR* у пациентов с МВ

№ п.п.	Название	сDNA	Белок	РБ		РФ**		χ^2*	p
				n	%	n	%		
1.	F508del	c.1521_1523del	p.Phe508del	141	54,65	3829	51,55	0,834	0,362
2.	E92K	c.274G>A	p.Glu92Lys	34	13,18	257	3,46	61,993	<0,001*
3.	3849+10kbC>T	c.3718-2477C>T	-	12	4,64	165	2,22	6,541	0,011
4.	CFTRdele2.3	c.54-5940_270+10250del 21kb	p.Ser18ArgfsX16	9	3,48	454	6,11	3,033	0,082
5.	L138ins	c.413_415dupTAC	p.Leu138dup	7	2,71	122	1,64	1,731	0,189
6.	N1303K	c.3909C>G	p.Asn1303Lys	4	1,55	113	1,52	0,001	0,971
7.	394delTT	c.262_263del	p.Leu88IlefsTer22	4	1,55	63	0,85	0,726	0,395*
8.	p.[G509D; E217G]	[c.1526G>A; c.650A>G]	p. [Gly509Asp; p.Glu217Gly]	3	1,16	1	0,01	63,312	<0,001
9.	2143delT	c.2012del	p.Leu671Ter	3	1,16	147	1,98	0,494	0,483*
10.	p. [S466X; R1070Q]	[c.1397C>G; c.3209G>A]	[p.Ser466Ter; p.Arg1070Gln]	3	1,16	34	0,46	1,222	0,270*
11.	S1196X	c.3587C>G	p.Ser1196Ter	3	1,16	32	0,43	1,553	0,213*
12.	W1282X	c.3846G>A	p.Trp1282Ter	3	1,16	128	1,72	0,193	0,661*
13.	Y84X	c.252T>A	p.Tyr84Ter	3	1,16	4	0,05	22,609	<0,001*
14.	G194R	c.580G>A	p.Gly194Arg	2	0,77	5	0,07	13,729	<0,001
15.	1525-1G>A	c.1393-1G>A	-	2	0,77	1	0,01	20,127	<0,001*
16.	G551D	c.1652G>A	p.Gly551Asp	1	0,39	3	0,04	1,031	0,310*

Продолжение таблицы 12

17.	2184delA	c.2052delA	p.Lys684Asnfs*38	1	0,39	2	0,03	1,639	0,201*
18.	621+1G>T	c.489+1G>T	-	1	0,39	14	0,19	0,000	0,996*
19.	L1335P (4136T>C)	c.4004T>C	p.Leu1335Pro	1	0,39	13	0,18	0,002	0,965*
20.	R117C (481C>T)	c.349C>T	p.Arg117Cys	1	0,39	7	0,09	0,207	0,650*
21.	4061G>A (W1310X)	c.3929G>A	p.Trp1310Ter	1	0,39	23	0,31	0,120	0,729*
22.	D1152H (3586G>C)	c.3454G>C	p.Asp1152His	1	0,39	9	0,12	0,083	0,773*
23.	1717-1G>A	c.1585-1G>A	-	1	0,39	4	0,05	0,680	0,410*
24.	1367del5	c.1243_1247delAA CAA	p.Asn415Ter	1	0,39	31	0,42	0,175	0,676*
25.	3821delT (S1231fs)	c.3691delT	p.Ser1231ProfsX4	1	0,39	38	0,51	0,029	0,866*
26.	4015delA	c.3883delA	p.Ile1295PhefsX33	1	0,39	13	0,18	0,002	0,965*
27.	2184insA	c.2052_2053insA	p.Gln685ThrfsX4	1	0,39	144	1,94	2,457	0,117*
28.	W1282R	c.3844T>C	p.Trp1282Arg	1	0,39	128	1,72	1,947	0,163*
29.	CFTRdup6b-10	c.(743+1_744-1)_ (1584+1_1585- 1)dup	-	1	0,39	10	0,13	0,048	0,827*
30.	2485C>T (R785X)	c.2353C>T	p.Arg785X	1	0,39	12	0,16	0,010	0,922*
31.	S737F	c.2210C>T	p.Ser737Phe	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
32.	-	c.3883_3888dup	p.Ile1295_Phe1296dup	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
33.	3041-15T>G	c.2909-15T>G	-	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
34.	12TG5T	c.1210-11T>G	-	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
35.	W19G	c.55T>G	p.Trp19Gly	1	0,39	-	-	6,706	0,010*
36.	Не выявлено (X)			5	1,94	377	9,5%	4,555	0,033
Число хромосом				258	100				

* критерий χ^2 с поправкой Йейтса ** Согласно данным Регистра с МВ в РФ 2021г., частота рассчитана на 3713 пациента.

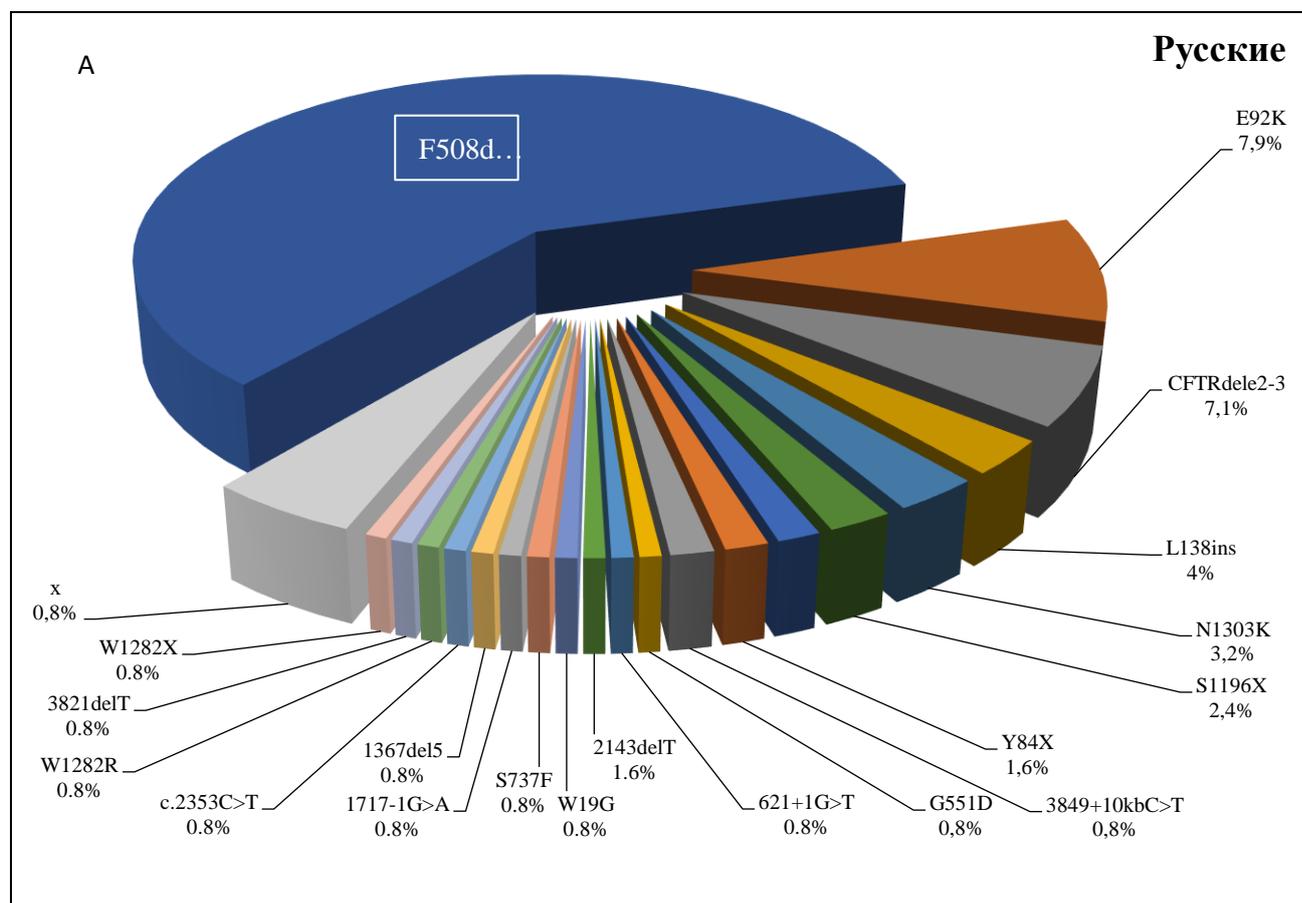
Сочетание вариантов F508del;L467F обнаружено у 16,22% (12 человек) обследованных пациентов, а частота комплексного аллеля F508del;L467F составила 8,11%, по стране - 4,42 % [128].

Большинство (79%) пациентов (103 из 129) являются гомозиготными или компаунд-гетерозиготными по мутации F508del, ее общая частота составила 54,65%. Самая высокая частота F508del - 85,7% - выявлена у пациентов украинского происхождения, 62,7% - у русских, 46,7% - у татар, 40% - у башкир и 25% - у чувашей.

Таблица 13. Национальный состав семей больных муковисцидозом в Республике Башкортостан

№ п.п.	Этнические группы	Языковая принадлежность	Н, абс.	Частота, %
1	Русские	славянский	56	43,4
2	Татары	тюркский	38	29,5
3	Башкиры	тюркский	7	5,4
4	Украинцы	славянский	4	3,1
5	Чуваши	тюркский	1	0,8
6	Армяне	армянский	1	0,8
7	Карачаевцы	тюркский	1	0,8
8	метисы		21	16,3
Всего				100

В выборке 2 хромосомы армянского происхождения и 2 хромосомы узбекского, в которых также обнаружена эта мутация, но малочисленность этих групп не позволяет нам оценить истинную частоту мутации в этих этнических группах (таб. 13).



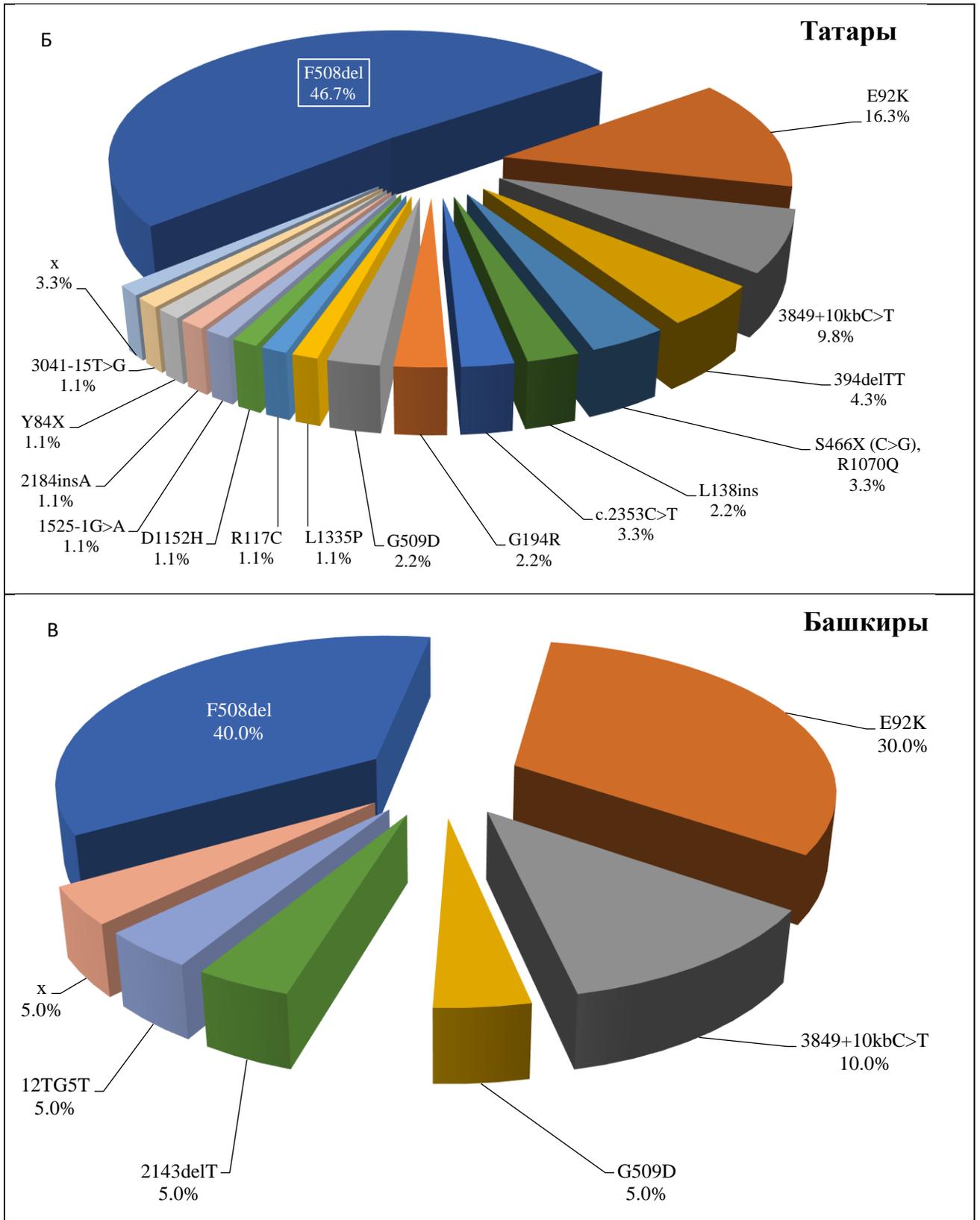


Рисунок 9 – Спектр и частота мутаций в гене *CFTR* в трех этнических группах пациентов из Республики Башкортостан.

На основе полученной информации и ДНК-анализа все выявленные мутации распределены по хромосомам в соответствии с этническим происхождением родителей, даже в случае метисного брака и проведен анализ частот и спектра мутаций в каждой этнической группе пациентов (рис. 9)

В трех наиболее многочисленных когортах пациентов (русские, татары и башкиры) наблюдается выраженная неоднородность в спектре и частотах мутаций. У пациентов русской национальности выявлено 19 мутаций, у татар - 17, у башкир - 6. Только 5 мутаций распространены у русских и татар, 4 мутации - у русских и башкир, и только 4 - у татар и башкир, хотя они обе принадлежат тюркской группе алтайской языковой семьи (рис. 10).

У пациентов русского происхождения девять мутаций: F508del, E92K, CFTRdele2-3, 3849+10kbC>T, L138ins, N1303K, S1196X, 2143delT, Y84X составляют 91,3%. Мутации G551D, 621+1G>T, W19G, S737F, 1717-1G>A, 1367del5, W1282R, 3821delT, c.2353C>T выявлены только у пациентов русской национальности.

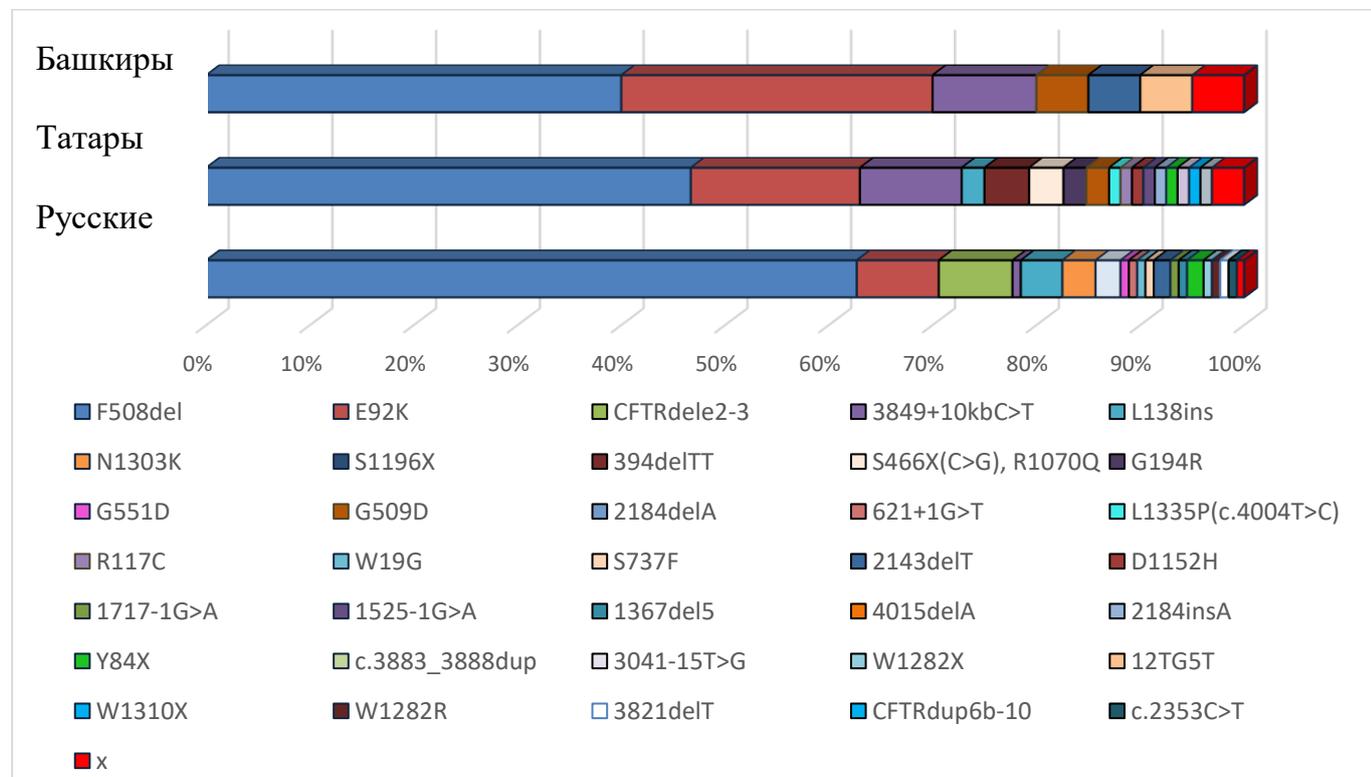


Рисунок 10. - Сравнительный анализ распределения спектра и частот мутаций в гене *CFTR* между когортами пациентов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности.

У пациентов татарской этнической принадлежности восемь мутаций: F508del, E92K, 3849+10kbC>T, 394delTT, S466X (C>G), R1070Q, L138ins, G194R, G509D составили 87%. Мутации 394delTT, S466X (C>G), R1070Q, G194R, G509D, L1335P, R117C, D1152H, W1310X, 2184insA, 3041-15T>G обнаружены только на хромосомах татарского происхождения.

На 80% хромосом башкирского происхождения обнаружены 3 мутации: F508del, E92K и 3849+10kbC>T. Мутации 12TG5T, 2143delT, p.[G509D;E217G] однократно у пациентов башкирского происхождения выявлены с частотой 5%. У пациентов чувашской национальности, помимо мутации E92K, обнаружена F508del, у пациентов украинского происхождения - наряду с мутацией F508del обнаружен вариант 2184delA, у армян наряду с F508del обнаружена мутация 4015delA. У пациента карачаевского происхождения обнаружена только мутация W1282X в гомозиготном состоянии, на хромосоме польского происхождения обнаружена ранее неописанная мутация c.3883_3888dup (p.Phe295_Phe1296dup) (таб. 14).

Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии генетической гетерогенности по частоте и спектру мутаций у пациентов с МВ разного этнического происхождения, проживающих в РБ. Полученная картина укладывается в идею о том, что спектр мутаций для разных популяций и географических групп имеет специфическую закономерность, и при проведении молекулярно-генетической диагностики необходимо учитывать это, чтобы упростить и ускорить поиск патогенных вариантов у пациента с учетом этнической и социальной принадлежности. региональные особенности.

Продолжение таблицы 14

20.	D1152H	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
21.	1717-1G>A	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
22.	1525-1G>A	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,500	0	0,000	0	0,000	0	0,000
23.	1367del5	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
24.	4015delA	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,500	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
25.	2184insA	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
26.	Y84X	2	0,016	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
27.	c.3883_3888dup	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	1,000
28.	3041-15T>G	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
29.	W1282X	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	2	1,000	0	0,000
30.	12TG5T	0	0,000	0	0,000	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
31.	W1310X	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
32.	W1282R	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
33.	3821delT	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
34.	CFTRdup6b-10	0	0,000	1	0,011	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
35.	c.2353C>T	1	0,008	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
36.	x	1	0,008	3	0,033	1	0,050	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
37.	n	126	1,000	92	1,000	20	1,000	8	1,000	4	1,000	2	1,000	2	1,000	1	1,000	2	1,000	1	1,000

Генетическая неоднородность по частоте и спектру мутаций выявлена у пациентов разной этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. Впервые у пациента польского происхождения мы выявили мутацию c.3883_3888dup, приводящую к дупликации p.Ile1295_Phe1296dup в состоянии компаунд-гетерозиготности с мутацией CFTRdele2-3. В этой области ранее была описана делеция c.3883_3886del, которая приводит к сдвигу рамки считывания с прогнозируемым альтернативным стоп-кодоном (p.I1295Ffs*32) и была обнаружена у пациентов с муковисцидозом [169], но патогенность выявленной дупликации требует дальнейшего изучения. У 19-летней пациентки из нашей выборки это изменение сочетается с мутацией CFTRdele2-3. Данных о неонатальном скрининге нет. Диагноз «муковисцидоз» был поставлен в 7 лет на основании респираторного и кишечного синдромов, а также высокого уровня хлоридов в поте - 102–118 ммоль/л. В настоящее время наблюдается смешанная форма заболевания с умеренным течением, бронхоэктазами слева, хронической дыхательной недостаточностью, хронической недостаточностью поджелудочной железы и хроническим высеvom *Ps. aeruginosa*. Таким образом, локальное генетическое разнообразие является основой структуры распространения мутаций. Основной набор мутаций *CFTR* в РБ установлен, хотя некоторые редкие мутации встречаются у отдельных пациентов, и крайне важно провести тщательный поиск мутаций у пациентов различного географического происхождения, чтобы определить молекулярно-генетическую основу каждого отдельного случая заболевания.

У 5 пациентов мутации выявлены в гетерозиготном состоянии, несмотря на повышенный уровень хлоридов в поте и наличие клинических проявлений заболевания, среди них 3 пациента были татарской, один башкирской и один русской национальности.

Патогенный вариант 3849+10kbC>T относится к V классу, характеризуется снижением количества нормального транскрипта или снижением функциональности белка. Нарушается сплайсинг и тяжесть течения заболевания коррелирует с количеством нормального транскрипта *CFTR* мРНК.

F508del на первом месте по частоте в РБ. Большинство 75% семей с МВ из РБ являются гомозиготными или компаунд-гетерозиготными по мутации F508del, ее частота в целом составила 54,65%, что согласуется с литературными данными.

Примерно 60% пациентов с МВ в Европе имеют по крайней мере одну мутацию F508del. Эта мутация более распространена в странах юго-восточной и северной Европы, чем в их южных регионах. Частота F508del варьируется от 5% в Грузии до 81,4% в Албании и Дании [54]. Мутация F508del является наиболее частой мутацией в Иране и составляет 23% всех мутаций [127]. Большинство вариантов мутации гена CFTR географически ограничены небольшими территориями [155].

Идентифицирован комплексный аллель, когда генотип F508del/F508del встречается в сочетании с вариантом L467F;F508del в цис-положении, что влияет на клиническое течение муковисцидоза, комплексный аллель характеризуется «тяжелым генотипом» и не эффективностью лечением таргетной терапии [155]. Terlizzi V и коллеги в 2022 г. сообщают, что при варианте L467F;F508del терапия препаратом «лумакафтор/ивакафтором» не дает улучшения. По результатам нашего исследования сочетание вариантов F508del;L467F обнаружено у 16,22% (12 человек из 74) обследованных пациентов, частота сложного аллеля составила 8,11%, что превышает общероссийские показатели, где его частота не превышает 4,22% [128]. Вероятно, это связано с популяционно-генетическими особенностями исследуемой выборки: большинство наших пациентов, у которых оценивалась частота встречаемости варианта L467F, были татарами (66,67%), а остальные — русскими, что отличается от структуры населения общероссийской когорты пациентов.

Среди российских больных МВ по данным Национального регистра второй по частоте встречаемости является мутация CFTRdele2,3 (относительная частота - 6,1%). В нашем исследовании ее частота в целом составила 3,48% и обнаружена только у пациентов русской этнической принадлежности, где частота достигла 7,1%, она оказалась третьей по частоте мутацией у русских пациентов из РБ и 4 в общей выборке, за счет преобладания пациентов русской этнической

принадлежности. Патогенный вариант характеризуется «восточно-славянским» происхождением [129], что согласуется с нашими результатами. Относительная частота мутации CFTRdele2,3 максимальна у больных МВ из России, снижается в Европе с востока на запад и севера на юг: Чехия - 4,7%, Польша, Украина - 1% по данным Всемирной организации здравоохранения за 2004. Патогенный вариант CFTRdele2,3 приводит к делеции 21 080 п.н., охватывает интроны 1-3 гена *CFTR*. Анализ транскриптов показал, что эта делеция приводит к потере экзонов 2 и 3 в эпителиальной мРНК *CFTR*, в результате чего в экзоне 4 возникает сигнал преждевременной терминации.

Вторая по частоте у пациентов из РБ - мутация E92K, которая обнаружена на 13,18% хромосом в целом, выявлена на 75% хромосом чувашского происхождения, 30% - башкирского, ее частота составила 16,3% у татар и 7,9% - у русских. В ранее проведенных исследованиях тюркоязычных групп Волго-Уральского региона E92K обнаружен у татарского населения, тогда как у башкирского населения эти варианты не обнаружены [130]. Наибольшая частота зафиксирована у пациентов из Чувашии, вариант определяется с небольшой частотой у пациентов юго-восточного средиземноморья и распространена у тюркских народов (Турция – 2,6%), Болгарии (0,47%) [131]. Согласно данным регистра больных муковисцидозом в РФ 2021 г. частота варианта E92K (с.274G > A) в Центральном федеральном округе составляет - 1,8%, в Северо-Западном - 1,1%, в Приволжском - 9,2%, в Уральском - 2,5 %, в Сибирском - 2,7%, в Северо-Кавказском – 7,3%, в Москве – 2,7%. В Санкт-Петербурге, Дальневосточном, Южном федеральных округах эта мутация не выявлена. Распространение варианта E92K в РФ соответствует доле чувашей в составе населения, часто встречается у тюркоязычного населения в приволжском округе и преимущественно у пациентов чувашской национальности (55%) [126]. Частота патогенного варианта E92K гена *CFTR* Америке и Европе очень низкая, однако Турции - 2,7% [132]. Высокая частота мутаций E92 в РБ, вероятно, является результатом смещения племен проживающих на сопредельных территориях на стадии формирования современных популяций.

Третья по распространенности среди пациентов из РБ мутация 3849+10kbC>T, ее частота в общей выборке составила 4,64%, у башкир достигла 10%, татар – 9,8%, тогда как у русских ее частота не превысила 0,8%. Частота встречаемости мутации 3849+10kbC>T в мире - 0,87 [133], в России – 2,11% (регистр МВ РФ) [29]. Эту мутацию можно рассматривать как этно-специфичную для пациентов татарской и башкирской этнической принадлежности.

Вариант L138ins является одним из распространенных генетических вариантов гена CFTR у российских больных МВ по данным Национального регистра российских больных МВ [134]. По частоте вариант L138ins (1,64%) на девятом месте в России согласно Регистру МВ РФ в 2021 г. В нашей выборке его частота составила 2,71%, встретилась в 4% - русских, 2,2% - татарских хромосом, у представителей других этнических групп не выявлена. Мутация L138ins в гене CFTR в мире выявляется редко. В России она идентифицируется на Среднем Урале [134].

Вариант L138ins (с.413_415dupTAC, р.(Leu138dup)) представляет собой дупликацию трех СТА-нуклеотидов в экзоне 4 гена CFTR. Этот тип генетического варианта относится к небольшим инсерциям/делециям, которые не меняют рамку считывания, также известным как внутрирамочные вставки/делеции [171]. Этот вариант нуклеотидной последовательности приводит к дупликации лейцина (кодон СТА) в положении 138, что добавляет аминокислотный остаток к молекуле белка CFTR. Эта позиция расположена во втором мотиве белка CFTR, проникающем через мембрану, первом мембраносвязанном домене (MSD1), участвующем в формировании поры хлорного канала, что нарушает свойства проводимости хлорного канала (IV -V классы патогенного действия на белок CFTR).

Вариант L138ins в гене CFTR был впервые обнаружен в 1996 году в исследовании Dörk T. et al. у 1 из 106 пациентов с синдромом CBAVD [29]. Пациент имел генотип L138ins/5T, сохраненную функцию поджелудочной железы, отсутствие поражения легких, нормальный уровень хлоридов пота (менее 60 ммоль/л). В настоящее время вариант L138ins (с.413_415dupTAC,

p.(Leu138dup)) определен как патогенный, вызывающий МВ вариант гена CFTR с легкими клиническими проявлениями [135].

В целом, генетическая характеристика распределения мутаций CFTR в РФ определяется меньшей частотой доминирующих в мире мутаций: F508del, G542X, N1303K; низкой частотой патогенных вариантов G551D, 1717-1G>A, 2183AA>G и отличается высокой частотой мутаций, которые редко встречаются в западной Европе: CFTRdele2,3, E92K, 2184insA, 2143delT, 1677delTA, L138ins. В России по сравнению с Европой чаще идентифицируются «мягкие» мутаций, доля «мягких» мутаций увеличивается в последние годы. Таким образом, исторически сложилось, что генетический профиль российских пациентов сформировался под влиянием славянских, тюркских и финно-угорских народов [134].

Кроме описанных выше, с частотой более 1% в нашей выборке обнаружены мутации N1303K, 394delTT - по 1,55%, p.[G509D; E217G], S1196X, 2143delT, p.[S466X; R1070Q], Y84X, W1282X - по 1,16%.

Мутации N1303K и G551D относят к исторически древним мутациям, имеющим средиземноморское происхождение. Мутация II класса N1303K идентифицирована в 1991 г. во втором участке связывания нуклеотидов гена CFTR. Частота мутации N1303K значительно варьирует в популяциях Европы, реже встречается в Южной, чем в Северной Европе, распространена во многих популяциях мира [137]. В мире частота N1303K и G551D составляет 2,14% и 1,405, соответственно [126]. В РФ мутация N1303K обнаружена только у пациентов русской этнической принадлежности с частотой 2,9%. В России частота N1303K – 1,52%, G551D 0,04%.

Вариант G551D кельтского происхождения, распространился в Европе в связи с миграцией этих племен. Высокая частота отмечается в Чехии, Германия, северная Австрия, Ирландия, Великобритания, северо-запад Франции [137].

Клиническая значимость при МВ редкого варианта G509D в гене CFTR рассматривается, как генетический вариант неопределенного значения [CFTR-France]. У трех пациентов из Республики Башкортостан татарского (частота 2,22%) и башкирского (частота 5%) происхождения выявлен в составе

комплексного аллеля E217G;G509D, который включает в себя генетический вариант G509D (с.1526G>A, р.Gly509Asp) и полиморфный вариант E217G (с.650A>G, р.Glu217Gly), происходит замена глицина на аспарагиновую кислоту в нуклеотид связывающем домене NBD1 белка CFTR, относится к мутациям IV–VI класса, клиническая картина соответствует проявлениям «мягких» мутаций [138]. В Национальном регистре пациентов с МВ (2021) частота комплексного аллеля р.[G509D/E217G] – 0,01%, в РБ в целом - 1,16%. Эту мутацию можно рассматривать как этно-специфичную для пациентов татарской и башкирской этнической принадлежности.

Вариант 394delTT «нордическая» или «северная» происходит с Севера Европы, распространена по побережью Балтийского моря Эстония, (Швеция, Норвегия, Дания, Финляндия, Россия). На втором месте по распространенности после мутации F508del в Финляндии и в Эстонии, относительная доля которой составляет 35% у финнов и 13,7% у эстонцев (WHO, 2004). Народы Волго-Уральского региона в своем этногенезе имели финно-угорские корни, возможно в этой связи обнаружена у четырех пациентов татарской национальности из Республики Башкортостан, частота 394delTT составила 4,3% у татар и 1,5% в общей выборке. Эту мутацию можно рассматривать как этно-специфичную для пациентов татарской этнической принадлежности.

Мутация W1282X в нашей выборке выявлена на одной хромосоме русского происхождения и двух – карачаевского. Предполагается, что мутация W1282X произошла как единичное мутационное событие в популяции евреев Ближнего Востока до их миграции в Европу [WHO, 2004]. Дальнейшее распространение этой мутации в различных регионах связано с переселением евреев-ашкенази. Мутация W1282X обнаружена в разных регионах мира. Наибольшая частота мутации обнаружена в популяции евреев-ашкенази (до 50% мутантных аллелей среди больных МВ, частота носительства - 1:54 и популяционная частота - 0,0092) [144]. Высокая популяционная частота мутации W1282X обнаружена у тюркоязычных групп Северного Кавказа (карачаевцы и ногайцы - 0,0092 и 0,0132), у абазин (0,0039) и у осетин (0,0032). Исследования показали, что

проникновение мутации W1282X на территорию Карачаево-Черкесии и европейской части России происходило в разное время и разными группами носителей этой мутации [139].

В 2015 году идентифицирован комплексный аллель S466X/R1070Q, который проявляет свойства мутаций I класса и «тяжелых» мутаций. S466X - замена нуклеотида в 1397-м положении, приводящую к образованию преждевременного стоп-кодона в положении 466 вместо кодона TCA (серин). Формирование стоп-кодона может происходить в результате 2 замен нуклеотида 1397C в данном триplete: с.1397C>A и с.1397C>G с образованием мутаций S466X(TAA) и S466X(TGA) соответственно. Мутации, приводящие к замене аргинина в кодоне 1070 (R1070), ассоциированы с различными по тяжести клиническими фенотипами (от мужского бесплодия до классической формы с панкреатической недостаточностью). Аргинин в положении 1070 находится в центре цитоплазматической петли 4 - большого кластера эволюционно консервативной области аминокислотной последовательности белка CFTR [140]. Частота данного комплексного аллеля в РФ составляет 0,46 %, в РБ - 1,16%, обнаружен только на 3 хромосомах татарского происхождения. Его частота достигает 3,3% у татар и S466X/R1070Q можно рассматривать как этно-специфичный вариант.

Патогенные варианты S1196X и 2143delT в РФ встречаются с частотой 0,43% и 1,98% -соответственно, в РБ вариант S1196X (экзон 19) идентифицирован у трёх русских пациентов с частотой 1,16 %. Вариант 2143delT, влияющий на сплайсинг (в пределах 1-2 нуклеотидов от экзон-интронного сочленения) идентифицирован у одного пациента русской этнической принадлежности в гомозиготном состоянии и у одного пациента башкирской этнической принадлежности в компаунд-гетерозиготном состоянии F508del/2143delT.

Новая нонсенс-мутация Y84X у пациентов с МВ русской этнической группы из РБ обнаружена у двоих пациентов: один пациент в гомозиготном состоянии Y84X/Y84X, один пациент в компаунд-гетерозиготном состоянии 3849+10kbC->T/Y84X. Согласно Регистру МВ в России частота составляет 0,05%, в РБ по данным нашего исследования - 1,16%.

Редкая мутация 1525-1G>A обнаружена у одного пациента татарской национальности из РБ. Данная мутация выявлена у пакистанцев с частотой 9,6% [141]. Позднее изучена в 2020 г. группой ученых под руководством Xinyue Zhao у пациента с МВ из Китая, описано влияние на сплайсинг мРНК CFTR.

Патогенные варианты D1152H идентифицированы у пациентов чеченской национальности согласно данным регистра МВ РФ, в РБ эта мутация (0,39%) выявлена у пациента татарской этнической принадлежности.

Обнаружен редкий вариант 3041-15T>G (с.2909-15T>G) ранее описан в гомозиготном состоянии у пациента из Турции, идентифицирован у пациентки татарской национальности, родившейся в 2012 году, в сочетании с мутацией L138ins. У 12-летнего пациента легкое, без осложнений течение заболевания, сопровождающееся артралгиями и инфекциями мочевыводящих путей. Изменение последовательности 3041-15T>G (примерно 2909-15T>G) происходит в интроне 17 гена CFTR. Этот вариант присутствует в базах данных населения (rs397508455, с точностью до 0,006%). В ClinVar также содержится запись об этом варианте (идентификатор вариации: 53592). Экспериментальные данные показали, что этот вариант влияет на сплайсинг мРНК; в частности, было обнаружено, что этот вариант приводит к aberrантному сплайсингу в 81,23% исследованных транскриптов, что приводит к пропуску экзона 16 за пределы кадра [156].

Самое раннее сообщение о мутации с.1393-1G>A (старое название 1525-1G>A) было у пациента индоиранского происхождения [157], 50% пациентов с этой мутацией - жители Хормозгана на юге Ирана. Эта акцепторная мутация сплайсинга редко встречается во всем мире, при этом основные сообщения имеют азиатское происхождение [158], например, шриланкийское [159], афганское [160], индийская [161] и палестинская популяции [162]. Частота в РФ - 0,01%, в РБ - 0,77%. В РБ данный вариант определен у 1 пациента татарской и 1 - узбекской этнической принадлежности.

Патогенный вариант с.2353C>T (R785X) в РФ в единичном случае выявлен у пациента русской этнической принадлежности [3], в РБ обнаружен у одного

пациента русской национальности в компаунд-гетерозиготном состоянии с мутацией N1303K – 0,39%.

Некоторые страны демонстрируют свой спектр мутаций в гене *CFTR*, кардинально отличается от таковой в других популяциях мира. Так для пациентов из Ирана характерен свой уникальный спектр мутаций, с частотой более 5% обнаружены следующие мутации: с.1000C>T (6,33%), с.1397C>G (5,73%), с.1911delG (5,73%) и с.1393-1G>A (5,06). %) [127].

Республика Башкортостан характеризуется своеобразием генофонда коренных народов, принадлежащим к славянским, тюркским, финно-угорским популяциям, проживающих длительное время на общей территории, что предполагает смешение генофондов и характеризуется наличием европеоидных и монголоидных компонентов в различных соотношениях. Таким образом, обнаружен уникальный спектр мутаций у пациентов из РБ, выявлены 35 патогенных вариантов в гене *CFTR*, который существенно отличается от общих Российских данных (таб. 13).

3.4 Анализ клинико-генетических корреляций с тяжестью заболевания с учетом класса патогенности мутаций

Гено-фенотипические корреляции при муковисцидозе зависят не только от основных патогенных изменений в гене *CFTR*, но и от модифицирующих факторов как внутри гена, так и в других генах, известно, что одни и те же мутации у разных пациентов проявляются различной степенью тяжести заболевания. Однако на сегодняшний день есть возможность прогнозировать течение заболевания в зависимости от класса мутаций, при этом количество их увеличивается, в связи с успехами молекулярной диагностики. Идентифицированы генотипы: «тяжелый» - присутствие двух мутаций в гене *CFTR* I–III класса, «мягкий» - при наличии одного или двух вариантов IV–V классов (<https://cftr2.org>) [16, 17]. «Тяжелые» генотипы преобладают среди пациентов РБ во всех возрастных группах, однако их число снижается с возрастом, как и в РФ (таб. 15).

Таблица 15. Характеристика классов патологических вариантов гена *CFTR* в РБ

[48]

№ п.п.	Мутации в гене <i>CFTR</i>	Класс	Функциональный класс	Классификация в базе CFTR2
1.	F508del	II	тяжелый	патогенный
2.	E92K	не определен	мягкий	патогенный
3.	CFTRdele2,3	VII	тяжелый	патогенный
4.	3849+10kbC>T	V	мягкий	патогенный
5.	L138ins	IV	мягкий	патогенный
6.	N1303K	II	тяжелый	патогенный
7.	S1196X	I	тяжелый	патогенный
8.	394delTT	I	тяжелый	патогенный
9.	S466X (C>G), R1070Q	не определен	тяжелый	патогенный
10.	G194R	не определен	не определен	патогенный
11.	G551D	III	тяжелый	патогенный
12.	E217G;G509D	не определен	мягкий	не описан
13.	621+1G>T	I	тяжелый	патогенный
14.	L1335P(c.4004T>C)	IV	мягкий	патогенный
15.	R117C	IV	мягкий	патогенный
16.	W19G	не определен	не определен	не описан
17.	S737F	не определен	не определен	не описан
18.	2143delT	I	тяжелый	патогенный
19.	1717-1G>A	I	тяжелый	патогенный
20.	1525-1G>A	I	тяжелый	патогенный
21.	1367del5	I	тяжелый	патогенный
22.	4015delA	I	тяжелый	патогенный
23.	2184insA	I	тяжелый	патогенный
24.	Y84X	I	тяжелый	не описан
25.	c.3883_3888dup	не определен	не определен	патогенный
26.	W1282X	I	тяжелый	патогенный
27.	12TG5T	не определен	не определен	патогенный
28.	W1310X	I	тяжелый	не описан
29.	W1282R	II	тяжелый	не описан
30.	3821delT	I	тяжелый	патогенный

Продолжение таблицы 15

31.	CFTRdup6b-10	не определен	не определен	не описан
32.	D1152H	IV	мягкий	Различные клинические варианты
33.	2184delA	I	тяжелый	патогенный
34.	3041-15T>G	не определен	не определен	не определен
35.	2485C>T (R785X)	I	тяжелый	патогенный

Анализ гено-фенотипических корреляций проведен для пациентов, состоящих на учете в настоящее время (n=98), без учета умерших пациентов, а также переехавших в другие регионы. Общий молекулярно-генетический ландшафт заболевания в Республике Башкортостан с учетом всех случаев ДНК диагностики описан в соответствующей главе. В настоящее время под наблюдением генетически подтвержден диагноз у 98 пациентов из 92 семей. В 6 семьях по 2 больных ребенка. За период наблюдения с 2019 по 2023 год умерло 2 пациента, в возрасте 17 и 20 лет.

Таблица 16. Спектр и частоты генотипов у пациентов из РБ в 2023 году

№ п.п.	Генотип	Кол-во	№ п.п.	Генотип	Кол-во
1.	F508del/F508del	17	24.	F508del/X	3
2.	F508del/E92K	19	25.	E92K/E92K	2
3.	F508del/CFTRdele2-3	3	26.	E92K/3849+10kbC>T	3
4.	F508del/3849+10kbC>T	4	27.	E92K/G509D	1
5.	F508del/L138ins	3	28.	E92K/L138ins	1
6.	F508del/N1303K	2	29.	E92K/N1303K	1
7.	F508del/S1196X	2	30.	E92K/X	1
8.	F508del/394delTT	1	31.	3849+10kbC>CFTRdele2-3	1
9.	F508del/S466X (C>G), R1070Q	1	32.	3849+10kbC>1525-1G>A	1
10.	F508del/G194R	1	33.	3849+10kbC>Y84X	1
11.	F508del/G551D	1	34.	CFTRdele2-3/c.3883_3888dup	1

Продолжение таблицы 16

12.	F508del/p.[G509D; E217G]	1	35.	CFTRdele2-3/S1196X	1
13.	F508del/621+1G>T	1	36.	L138ins/W1282X	1
14.	F508del/L1335P(c.4004T>C)	1	37.	2143delT/2143delT	1
15.	F508del/R117C	1	38.	394delTT/12TG5T	1
16.	F508del/W19G	1	39.	394delTT/W1310X	1
17.	F508del/S737F	1	40.	G194R/S466X (C>G)/R1070Q	1
18.	F508del/2143delT	1	41.	Y84X/Y84X	1
19.	F508del/1717-1G>A	1	42.	W1282R/3821delT	1
20.	F508del/1525-1G>A	1	43.	CFTRdup6b-10/X	1
21.	F508del/1367del5	1	44.	c.2353C>T/N1303K	1
22.	F508del/4015delA	1	Итого:		92
23.	F508del/2184insA	1			

Диагноз идентифицирован в соответствии с международным и российскими стандартами диагностики МВ, с анализом клинических, антропометрических, лабораторных, функциональных, рентгенологических, бактериологических данных исследований.

Молекулярный дефект идентифицирован у 94,89% (93/98) пациентов с МВ, выявлены 35 мутаций в гене CFTR. По результатам проведенной ДНК диагностики в 2023г. в РБ наблюдаются 98 пациентов из 92 семей, идентифицировано 44 генотипа, у 5-и пациентов выявлена 1 мутация, хотя имеются высокие показатели хлоридов в поте, все пациенты находятся под динамическим клиническим наблюдением (таб. 16).

В настоящее время продолжается анализ данных пациентов с повышенными показателями хлоридов в поте, у которых диагноз окончательно не подтвержден. У пробандов, у которых обнаружена только одна мутация в гетерозиготном состоянии. В метисных семьях установлено происхождение мутаций на основе анализа ДНК родителей и во всех семьях определено гетерозиготное носительство у членов семей (сибсов).

Проведен скрининг мутаций в гене CFTR у 250 членов отягощенных семей, среди которых 147 родители пациентов, 15 сибсы пациентов, 88 родственники (сибсы родителей пациентов), установлено гетерозиготное носительство мутаций

у 6 человек, всем проведено медико-генетическое консультирование и при планировании деторождения предложено проведение ДНК-диагностики второму родителю для определения гетерозиготного носительства и с возможностью пренатальной ДНК-диагностики. ДНК диагностика проводится пациентам и их родственникам для точной идентификации молекулярного дефекта, с последующей интерпретацией [147].

Также проведена пренатальная ДНК-диагностика муковисцидоза у 29 беременных женщин из отягощенных семей. В 13 случаях патогенные варианты у плода не выявлены, в 12 - обнаружено гетерозиготное носительство. В 4-х случаях идентифицированы мутации в гене CFTR в гомозиготном состоянии и по решению семей беременности были прерваны.

Охват генетическим обследованием пациентов с МВ в РБ в 2019-2023 гг. составил 100%, что гораздо выше по сравнению с показателем охвата по РФ – 93% (таб. 17).

Анализ генно-фенотипических данных выявил различия в зависимости от «тяжести» генотипа [145]. Это объясняется доминированием «мягкой» мутации над «тяжелой» и проявлением дисфункции хлорного канала в различных тканях организма. Нарушения работы хлорного канала более выражены в дыхательной системе, чем со стороны поджелудочной железы и других органов [131].

Нами изучены клинические проявления МВ у детей в Республике Башкортостан.

Клинически «тяжелые» и «мягкие» генотипы у наших пациентов проявлялись поражением бронхолегочной системы, начало заболевания при «тяжелом» генотипе характеризовалось заболеваниями пищеварительной и дыхательной системы, развитием осложнений со стороны других органов и систем. Выявлена связь тяжести заболевания от сроков манифестации: чем раньше развивается МВ у пациента, тем тяжелее течение и не благоприятнее прогноз.

Таблица 17. Характеристика эффективности ДНК-диагностики и частота мажорной мутации в гене *CFTR* в РБ и в РФ

№ п.п.	Варианты в гене <i>CFTR</i>	РБ, %	РФ, %
1.	Генетическое исследование (охват)	100	93
2.	Доля выявленных вариантов гена <i>CFTR</i>		
Генотип	Две мутации	94,89	83,3
	Одна мутация	5,11	13,3
Мажорная мутация	F508del/ F508del	19,2	30,0
	F508del/ неF508del	54,5	45,2
	неF508del/ неF508del	26,3	24,8
	F508del, аллельная частота	45,7	52,6
Течение заболевания	«Мягкий» фенотип	19,0	23,2
	«Тяжелый» фенотип	81,0	76,8

В таблице 18 дана характеристика клинические проявления «Тяжёлый»/«мягкий», «Тяжёлый»/«тяжёлый» и «Мягкий»/«мягкий» варианты генотипов в гене *CFTR* пациентов с МВ из Республике Башкортостан.

Наиболее частым вариантом у пациентов из РБ является F508del (с.1521_1523delCTT; p.Phe508del), который встречается на 46,7 % хромосом. У 19 пациентов с МВ мутация F508del встречается в гомозиготном состоянии - 19,2%, у 50 пациентов - представляет компаунд гетерозиготный вариант – 25,3%.

Гомозиготы по delF508/delF508 (таб. 18) относятся к «тяжелому» генотипу с ранней манифестацией, тяжелым течением. Всем пациентам из РБ диагноз установлен при неонатальном скрининге.

Потовые пробы определялись высокими величинами уровня проводимости хлоридов пота – выше 110 ммоль/л. Начало заболевания проявляется чаще кишечным синдромом из-за недостаточности панкреатических ферментов. У пациентов с генотипом delF508/delF508 отмечались жалобы на жирный «зловонный» стул, полифекалия, плохая прибавка веса, одышка при физической нагрузке, в покое, кашель с гнойной мокротой, вздутие и боли в животе, затрудненное носовое дыхание, деформация грудной клетки, задержка полового развития, признаки хронической гипоксии, синдром интоксикации. При изучении

клинических форм заболевания при генотипе F508del/F508del развивается смешанная форма МВ, по тяжести течения с одинаковой частотой встречаются тяжелое и среднетяжелое состояние - по 8 случаев, крайне тяжелое течение в 3х случаях.

Таблица 18. Характеристика заболевания в зависимости от сочетания вариантов гена *CFTR* в РБ

№ п.п.	Показатель	Функциональные нарушения работы белка		
		«Тяжёлый»/ «мягкий»	«Тяжёлый»/ «тяжёлый»	«Мягкий»/ «мягкий»
1.	Число, абс.	33	35	24
2.	Неонатальный скрининг, абс.	21	28	20
3.	Возраст постановки диагноза	1,5±4,5	1,0±5,1	5,2±8,3
4.	Мекониевый илеус	-	1	-
5.	Фекальная эластаза (<200нг), %	<100,0	<100,0	>100,0
6.	Осложнения поражения дыхательных путей, %	95,3	100	59,3
7.	Диабет, абс	2	5	0
8.	Цирроз печени, абс	6	9	1
9.	Синдром псевдо-Барттера	3	10	0
10.	Возраст пациентов	13,9±9,1	12,8±8,7	26,9±11.2
11.	Хлориды пота, ммоль/л	60,5 ± 27,3	100,2 ± 25,3	60,5 ± 26,7

Объективно недостаточность поджелудочной железы оценивалась при исследовании уровня эластазы-1 в кале, у пациентов выявлен низкий уровень

показателя (ниже 200 нг/г). Нутритивный статус больных МВ важный критерий для прогноза заболевания. Панкреатическая недостаточность нормализуется адекватной заместительной терапией, но низкий нутритивный статус связан с тяжелым течением бронхолегочного процесса.

Характеристика нутритивного статуса у детей проводилась на основании индекса массы тела (ИМТ) по Quetelet (масса (кг) / рост м²). Целевые показатели для подростков и взрослых > 18,5 кг/м² (Report of a WHO Expert Committee, 1995). Выраженные нарушения нутритивного статуса выявлены у взрослых пациентов, что связано с осложнениями, тяжелым течением бронхолегочного процесса. На фоне проводимой таргетной терапии этот показатель у пациентов значительно улучшился.

Прогноз болезни определяет критерий - колонизация бронхов микробной флорой, он характеризуется среди больных с генотипом delF508/delF508 высевом разнообразной флоры, в соответствии с чем индивидуально ведется подбор эффективной антибиотикотерапии. Далее для объективной оценки эффективности терапии исследовалась функция внешнего дыхания (ОФВ₁, % ФЖЕЛ, %), установлено, что в группе больных с генотипом delF508/delF508 отмечаются выраженные изменения, но после введения таргетной терапии данные показатели также улучшились у пациентов. Ультразвуковое исследование органов желудочно-кишечного тракта у пациентов выявило осложнения в виде диффузного уплотнения, усиления и деформации сосудистого рисунка поджелудочной железы, увеличения размеров поджелудочной железы, гепатоспленомегалию. Рентгенологическое обследование выявило усиление легочного рисунка, изменения воспалительного генеза, развитие пневмосклероза, инфильтративные тени, сегментарные ателектазы. В постоянной оксигенотерапии нуждается 3 пациента со значениями сатурации кислорода менее 89% и ателектазами в легких.

У 2-х больных выявлен синдром псевдо-Барттера уровень калия колебался от 2,9 до 3,2 ммоль/л, уровень натрия - от 125 до 132 ммоль/л. Основными симптомами болезни были рвота, отказ от еды, беспокойство и потеря веса. В 4

случаях симптомы появились при острой респираторной инфекции, при назначении препаратов калия, спиронолактона состояние купировалось.

У пациентов из РБ с мутацией F508del в сочетании с другими мутациями в компаунд-гетерозиготном варианте клиническая картина проявляется прогрессирующим хроническим бронхолегочным процессом и панкреатической недостаточностью, прогноз заболевания зависит от «тяжести» второй мутации. К При генотипе F508del/621+1G>T пациенту в раннем детстве проведена операция по поводу мекониевого илеуса, наблюдается со смешанной формой муковисцидоза, тяжелым течением. Среднетяжелое течение наблюдалось у 43 пациентов, тяжелое - у 7 пациентов.

Вторая по частоте оказалась известная мутация E92K (с.274G>A; р.Glu92Lys), которая выявлена на 16,2 % хромосом. Данная мутация 2 раза встречалась в гомозиготном состоянии, 28 пациентов являются компаунд гетерозиготными вариантами, при этом у 19 пациентов мутация E92K сочетается с вариантом F508del.

У пациентов из РБ с генотипом E92K/E92K отмечается «мягкий» генотип, при этом функция поджелудочной железы длительно сохранена, наиболее выражено воспаление в бронхолегочной системе. Диагноз одной пациентке установлен при проведении неонатального скрининга, второй - не проводился на момент рождения. Главными симптомами у пациентов являются воспалительный бронхообструктивный синдром, дыхательная недостаточность, при обследовании выявлены нарушение функции внешнего дыхания, по результатам компьютерной томографии - раннее развитие морфологических изменений в легких. Основным направлением в лечении таких пациентов является выведение вязкой мокроты и тем самым воздействие на воспаление в бронхолегочной системе. Отмечено, что при данном генотипе ферментная терапия препаратами поджелудочной железы применяется в меньших дозах, в связи с наличием сохранной функции.

Для компаунд-гетерозигот с генотипом E92K/F508del характерно более выраженные изменения со стороны органов дыхания по сравнению с гомозиготами E92K/E92K. Всем пациентам, рожденным после 2006 г., диагноз

установлен при проведении неонатального скрининга. При объективном исследовании выявляются изменения со стороны дыхательной системы: деформация бронхов, бронхоэктазы, пневмосклероз. Микробиологический фон у пациентов старшего возраста характеризуется инфицированием *S. Aureus*

Таким образом, тяжесть заболевания и его прогноз благоприятнее при наличии в генотипе двух «мягких» мутаций, чем при сочетании «тяжелой» и «мягкой» мутации.

Третья мажорная мутация - 3849+10kbC->T (с.3718-2477C>T) выявлена на 13 хромосомах представляет компаунд-гетерозиготный вариант (6,6%).

Пациенту с генотипом 3849+10kbC->T/CFTRdele2-3 из РБ диагноз муковисцидоз выставлен в ходе неонатального скрининга, троим пациентам неонатальный скрининг не проводился, так как родились в доскрининговый период в возрасте, в результате возраст установки диагноза $5,2 \pm 8,3$ года. Девяти пациентам, рожденным после 2006 года проводился неонатальный скрининг, но в группу риска они не попали, что говорит о том, что неонатальный скрининг не выявляет МВ с мягким генотипом, диагноз установлен при появлении обострения бронхолегочного процесса при последующем дообследовании. Таким образом, у пациентов наблюдается сомнительный потовый тест, что характерно для этого варианта. Вариант 3849+10kbC->T самый частый «мягкий» патогенный вариант в мире образует скрытый сайта инициации транскрипции и матричную РНК с экзоном, кодирующим 38 аминокислот, таким образом, часть транскриптов мРНК и белок CFTR функционируют, что объясняет позднюю манифестацию и сложности в диагностике муковисцидоза в связи с ложноотрицательными результатами скрининга и сомнительных показателях потового теста. [146]. Особенность данной мутации в том, что пациенты мужского пола не страдают азооспермией, как при других вариантах в гене *CFTR*, у одного 35-летнего пациента из РБ двое детей.

Мутация CFTRdele2-3 (с.54-5940_273+10250del21kb, p.Ser18ArgfsX16) выявлена у 7 пациентов в компаунд-гетерозиготном состоянии, частота составила 3,5%, в РФ на втором месте по частоте (6,11%), согласно Российскому регистру

муковисцидоза, 2021. Клиническая картина у пациентов из РБ с «тяжелым» генотипом характеризуется среднетяжелым и тяжелым течением, ранней манифестацией, высокими показателями хлоридов в поте до 200 ммоль/л, пациенты выявляются в ходе неонатального скрининга. Выражено поражение органов дыхания и желудочно-кишечного тракта с неблагоприятным прогнозом. У пациента с генотипом CFTR~~2-3/3883_3888dup~~ диагноз МВ установлен в возрасте 7 лет, в связи с высокими показателями хлоридов в поте (100- 112 ммоль/л), неонатальный скрининг не проводился, наблюдается со среднетяжелым течением заболевания, обострение хронического бронхолегочного процесса, хроническая панкреатическая недостаточность, хронический высев *Ps. aeruginosa*.

L138ins (с.413_415dupTAC; p.Leu138dup) - на 6 хромосомах (3,0%) мутация L138ins (p.Leu138dup) - клинически значимая с переменным, но относительно мягким клиническим течением МВ. Всем пациентам с МВ в РБ диагноз установлен в ходе проведения неонатального скрининга и по результатам высоких показателей хлоридов в поте, далее диагноз подтвержден по результатам генетического исследования. Пациенты наблюдаются со среднетяжелым течением, с более выраженными проявлениями со стороны органов желудочно-кишечного тракта, поражение органов дыхания характеризуется более поздней колонизацией микроорганизмами, нормальными показателями функции внешнего дыхания, что также связано с качеством оказываемой медицинской помощи пациентам РБ. Такие осложнения, как синдром псевдо-Барттера, мекониевый илеус, МВ-ассоциированный сахарный диабет не наблюдаются.

Мутация N1303K (с.3909C>G); (p.Asn1303Lys) обнаружена на 4 хромосомах (2,0%), патогенные варианты - 394delTT, 2143delT, Y84X детектированы на 3 хромосомах каждый - 1,5%, варианты S1196X, S466X (C>G); R1070Q G194R, E217G;G509D, 1525-1G>A выявлены на двух хромосомах каждая (1,0%).

Именно гетерогенностью русской и татарской популяций можно объяснить повышенное разнообразие мутаций по сравнению с другими популяциями

Республики Башкортостан. Только у представителей этих двух этнических групп была выявлена редкая мутация Y84X. Она ранее не была описана в мире, хотя присутствует в российском регистре; у 1 пациентки выявлена в гомозиготном состоянии, при этом вторая мутация обнаружена de novo. Пациент с генотипом Y84X/Y84X женского пола, 14 лет. Положительный неонатальный скрининг. Наблюдается с диагнозом муковисцидоз, смешанная форма, средне-тяжелое течение. Хронический гнойный обструктивный бронхит, ДН - 0 степени. Хроническая панкреатическая недостаточность средней степени. Хронический полипозно-гнойный гайморит. Микробиологический диагноз - интермиттирующий высев *Pseudomonas aeruginosa*. Белково-энергетическая недостаточность средней степени. Потовая проба на аппарате Нанодакт – 116 ммоль/л.

Мутация G509D характеризуется «мягким» генотипом, не описана в международных генетических базах, описана у пациентов РФ в исследованиях Ю.А. Мельяновской, 2023г. Существует мнение, что применение CFTR-модуляторов может предотвращать формирование структурных нарушений легких и снижение их функции при МВ. В настоящее время доказано, что при использовании таргетных препаратов улучшается функция легких у пациентов [50]. Оба пациента из РБ с генотипом F508del/E217G;E509D носители комплексного аллеля, это «мягкий» генотип, так как у больных наблюдается сохранная функция поджелудочной железы, поздняя манифестация симптомов (в ходе проведения неонатального скрининга пациенты не попали в группу риска), зарегистрированы пограничные результаты потового теста.

Комплексный аллель S466X;R1070Q выявлен у одного пациента из РБ в сочетании с вариантом F508del, заболевание характеризуется тяжелым течением, ранней манифестацией, поражением органов дыхания и панкреатической недостаточностью, с низким нутритивным статусом.

Среди 13 детей гомозигот по F508del в гене CFTR выявлены 2 пациента с комплексным аллелем Leu467Phe;Phe508del, который приводит к устойчивости к таргетной терапии препаратом: «лумакафтор+ивакафтор». Пациенты в настоящее

время получают терапию таргетным препаратом «Элексакафтор+Тезакафтор+Ивакафтор/Ивакафтор», на фоне все лечения пациенты показали высокую эффективность препарата.

Мутация S1196X представляет собой преждевременный стоп-кодон и является одной из наиболее частых мутаций этого типа в исследованной выборке русских, хотя в целом ее аллельная частота довольно низкая (0,01%). Это ниже частоты мутации W1282X, которая также относится к этому же типу мутаций [171].

Однако, в отличие от S1196X, мутация W1282X характерна для больных МВ из популяций Северного Кавказа. В частности, в нашей выборке один из пациентов с мутацией W1282X в гомозиготном состоянии имел карачаевское этническое происхождение. Скорее всего, у пациента из русской выборки есть предки из популяций, представляющих Кавказский регион, что еще раз указывает на гетерогенность данной выборки. У пациентов из РБ с генотипами F508del/S1196X, CFTRdele2-3/S1196X выявлен муковисцидоз по результатам неонатального скрининга, положительная потовая проба, заболевание протекает легочно-кишечными проявлениями, тяжелым течением, осложнения: хронический бронхит, двусторонние бронхоэктазы, хроническая панкреатическая недостаточность тяжелой степени и дыхательная недостаточность. Пациент с генотипом F508del/S1196X получает таргетную терапию, с положительной динамикой, снижением потовой пробы, восстановление функции дыхательной и пищеварительной системы, ведется мониторинг эффективности терапии. L138ins/W1282X - диагноз установлен при проведении неонатального скрининга, потовая проба 94;97 ммоль/л, клинически «мягкий генотип» с преимущественно бронхолегочными проявлениями.

За период наблюдения с 2019 г. по 2023 г. количество пациентов с подтвержденным диагнозом МВ в РБ увеличилось с 86 до 98 человек, выявлено 6 человек с гетерозиготным носительством патогенных вариантов в гене CFTR в отягощенных семьях среди sibсов пациентов родителей пациентов. Определен микробиологический статус, частота встречаемости хронического

инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* составила - 42,4%, в РФ - 34,1%. В РБ ОФВ1,% и ФЖЕЛ,%: у детей были $80,1 \pm 26,7$ и $84,5 \pm 21,6$; медианы: 81,5 (35,6) 86,0 (28,0), соответственно; у взрослых пациентов $70,3 \pm 22,6$ и $87,1 \pm 20,7$; медианы: 60,0 (41,4) и 77,5 (34,4), соответственно У 19% пациентов из Республики Башкортостан установлен «мягкий» фенотип, 81,0% - «тяжелый» фенотип, ранняя манифестация заболевания сопровождается тяжелым течением с ранним инфицированием органов дыхания и развитием осложнений, степень тяжести течения кистозного фиброза коррелирует с классом патогенности выявленных мутаций.

В настоящее время продолжается анализ данных пациентов с повышенными показателями хлоридов в поте, у которых диагноз окончательно не подтвержден. У пробандов, у которых обнаружена только одна мутация в гетерозиготном состоянии. В метисных семьях установлено происхождение мутаций на основе анализа ДНК родителей и во всех семьях определено гетерозиготное носительство у членов семей (сибсов).

На современном этапе изучения муковисцидоза главная задача состоит в том, чтобы интегрировать результаты молекулярно-генетических исследований в практическое здравоохранение, в процесс разработки доступных диагностических мероприятий и новых классов лекарств с целью увеличения продолжительности жизни и улучшения её качества у пациентов с муковисцидозом [138]. Верификация генотипа при муковисцидозе, как важный этап при подготовке к назначению таргетной терапии [128].

3.5 Частота носительства наиболее частых мутаций в гене *CFTR* в этнических группах РБ

Мы провели поиск вариантов F508del, G542X, L138ins, E92K, W1282X, N1303K, 3849+10kb, R334W, S1196X, G85E, CFTRdele2-3, S466X, c.1624G>T, c.2184insA, c.2143delT, c.1677delTA в выборке из 859 человек, среди которых 332 башкира, 199 татар, 328 русских (дисперсные выборки из РБ) для выявления

носителей патогенных вариантов рецессивных мутаций MB. Мутации F508del и 3849+10kbC>T обнаружены у пациентов татарской, русской и башкирской этнической принадлежности. Частота мутации F508del выше у русских, что согласуется с литературными данными (таб. 19).

Мутации F508del и 3849+10kbC>T обнаружены во всех изученных популяциях, как и у пациентов татарской, русской и башкирской этнической принадлежности. Частота мутации F508del была выше у русских, что согласуется с литературными данными.

Таблица 19. Носительство мутаций в гене *CFTR* в популяционных выборках РБ

№ п.п.	Мутации	Башкиры N=332 / 664 хромосом		Татары N=199 / 398 хромосом		Русские N= 328 / 656 хромосом	
		абс.	частота	абс.	частота	абс.	частота
1	F508del	1	0,0015	2	0,005	5	0,0076
2	E92K	0	0	2	0,005	0	0
3	3849+10kbC>T	1	0,0015	1	0,0025	1	0,0015
4	CFTRdele2-3	1	0,0015	0	0	1	0,0015
5	L138ins	1	0,0015	0	0	3	0,0045
6	S1196X	0	0	1	0,0025	0	0
7	394delTT	0	0	1	0,0025	0	0
8	G509D	0	0	1	0,0025	0	0
9	R334W	1	0,0015	0	0	0	0
Всего:		5		8		10	

Носительство мутации E92K выявлена у двух человек татарской этнической принадлежности, CFTRdele2-3 и L138ins - у представителей русского и башкирского происхождения. Кроме этого, обнаружены носители редких мутаций G509D, S1196X и 394delTT - у татар, R334W - у башкир.

Ранее проводилось изучение носительства мутаций в гене *CFTR* у русских из четырех регионов России: Псков, расположенный на западе, Тверь - в центре, Ростов - на юге и Киров - на северо-востоке европейской части России. В российских выборках из четырех регионов обнаружено четыре разные мутации гена *CFTR*: F508del, CFTRdele2, 3, 1677delTA и W1282X, но во всех регионах обнаружена только F508del, частота варьируется от 0,0027 в Псковской области

до 0,0069 в Ростовской области. Различия в частоте мутации F508del между российскими регионами незначительны [143, 144].

По данным других авторов средняя частота мутации F508del у россиян составила 0,0056, что сопоставимо с данными, полученными другими исследователями, изучавшими лиц из русских популяций центральных регионов России, но значительно ниже, чем в ряде европейских популяций [164]. По нашим результатам частота мутации F508del у русских из РБ выше, чем у татар и башкир, в целом соответствует показателям по другим популяциям русских. Так, самые высокие популяционные частоты мутации F508del наблюдались на северо-западе Западной Европы, достигая в Шотландии и Дании - 0,015 и 0,013 соответственно [165. 166]; в странах Средиземноморья частота мутации F508del была ниже: например, в Италии - 0,010 [167], а в Израиле (среди евреев-ашкенази) - 0,0089, у коренного населения Индии (0,00209). В Эстонии частота варианта F508del составила 0,0059 [144], что существенно не отличается от полученной для русских в европейской части России. Относительная частота мутации F508del у пациентов с МВ снижается от северо-западной к юго-восточной Европе, меняется и популяционная частота мутации F508del [144].

Степанова и др. (2012) показали, что больных МВ из Чувашии преобладающей причиной заболевания являются варианты E92K и F508del, частота носительства мутации E92K составляет 1:68 (5/343 человек), а мутации F508del - 1:86 (4 /343). Среди изученных тюркоязычных групп РБ, к которым относятся и чуваша, носительство варианта E92K выявлено только у татар, несмотря на достаточно высокую частоту данной мутации у пациентов башкирской и русской этнической принадлежности. Вариант E92K описан у тюркских народов, в Турции на седьмом месте по частоте - 2,7%, в регистре МВ РФ E92K на третьем месте, в Чувашской Республике его частота - 50% - наибольший показатель в мире, в других регионах частота не превышает 0,1% [132].

Существуют региональные особенности в спектре мутаций: 1677delTA, так высокие популяционные частоты варианта обнаружены у таких автохтонных

популяциях Северного Кавказа, как абхазо-адыгейские [абазинцы (0,0171) и черкесы (0,0098)] и нахские [чеченцы (0,0150)] группы, но не у осетин и ногайцев [132].

Кроме частых вариантов мутаций, нами обнаружено носительство очень редких вариантов мутаций среди популяционной выборки из РБ, такие как R334W, что говорит о широком мутационном фоне среди жителей республики и вероятной метисации и внесении новых вариантов, что в последствии приведет к расширению спектра мутаций у пациентов, проживающих в РБ.

Наши данные вносят вклад в изучение популяционной отягощенности патогенными вариантами рецессивных заболеваний в целом и муковисцидоза в частности и демонстрируют, что их носительство может быть шире, чем спектр мутаций у пациентов из этого региона.

3.6 Оптимизация диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий

Нами также проведена комплексная оценка проводимого лечения муковисцидоза в Республике Башкортостан. В объем медицинской помощи входит: диетотерапия, бронхо- и муколитическая терапия, ферментотерапия препаратами поджелудочной железы, витаминотерапия, лечебная физкультура, профилактика и лечение осложнений МВ, применение гепатопротекторов, ингаляции. Назначение антибиотикотерапии в зависимости от тяжести состояния проводится в соответствии с чувствительностью выделенных микроорганизмов, с учетом ранее проводимого лечения, в том числе пациентам назначается курсовое длительное применение ингаляционных антибиотиков, применяется монотерапия и комбинации аминогликозидов и цефалоспоринов III-IV поколения и тд. [4].

Терапия, включающая препараты бронхолитики (дорназа альфа), ферменты, кинезиотерапию, витамины, урсодезоксихолевую кислоту, проводилась всем пациентам в РБ, принципиальных различий между показателями между РФ и РБ не выявлено (таб. 21). Назначение доз панкреатических ферментов

осуществляется с учетом особенностей течения заболевания при «мягком» и «тяжелом» генотипе у пациентов с МВ, проведена коррекция терапии пациентам с вариантом E92K. В РБ терапия пациентов с муковисцидозом проводится в соответствии с клиническими рекомендациями «Кистозный фиброз (муковисцидоз)», 2021 [4].

Таблица 21. Характеристика получаемой терапии у пациентов в РБ и РФ [29], n (%)

№ п.п.	Лекарственный препарат	РБ	РФ
1.	Дорназа альфа	100	95,2
2.	Гипертонический раствор натрия хлорида	75,3	72,7
3.	Антибиотики ингаляционные	40,5	45,7
4.	Антибиотики внутривенные	35,7	32,3
5.	Антибиотики пероральные	60,5	57,4
6.	Бронходилататоры	43,3	45,5
7.	Глюкокортикостероиды ингаляционные	9,3	10,3
8.	Глюкокортикостероиды системные	5,0	3,6
9.	Азитромицин в субингибирующей дозе	30,8	26,5
10.	Урсодезоксихолевая кислота	88,6	88,1
11.	Панкреатические ферменты	95,3	93,3
12.	Жирорастворимые витамины	95,2	91,2
13.	Кинезиотерапия	95,7	81,6
14.	Кислородотерапия	2,3	4,4

Согласно данным Фонда «Круг добра» в 2022 году РБ оказалась в лидерах по РФ по обеспеченности пациентов до 18-летнего возраста таргетной терапией, так как всем пациентам РБ проведено молекулярно-генетическое исследование, что является главным критерием назначения таргетной терапии. 44 ребенка

получают современное эффективное лечение. К 2023 г. обеспечены таргетными препаратами: МНН «Лумакафтор+ивакафтор» - 11 пациентов гомозигот по F508del. Таргетный препарат предоставляемый Фондом «Круг добра» МНН «Элексакафтор+Тезакафтор+Ивакафтор/Ивакафтор» получают 33 ребенка.

Мы исследовали генотип F508del/[L467F;F508del], при котором наблюдается устойчивость к таргетной терапии лекарственным препаратом лумакафтор + ивакафтор [128], эти пациенты получают эффективный лекарственный препарат «Элексакафтор+Тезакафтор+Ивакафтор/Ивакафтор». Таким образом, в РБ в полном объеме проведена ДНК-диагностика, которая позволила своевременно в соответствии с критериями Фонда «Круг Добра» обеспечить пациентов таргетной терапией.

За пациентами РБ, получающими терапию, ведется наблюдение, эффективность терапии мониторируются Фондом «Круг добра». Эффективность таргетной терапии оценивается на основании критериев Клинических рекомендаций, которые включают в себя: осмотр и антропометрия, спирометрия, потовая проба методом определения проводимости пота на аппарате Nanoduct (Вескор, США), определяются биохимические показатели в крови уровень аминотрансфераз, общего билирубина, пациенты осматриваются офтальмологом, для исключения развития осложнений (катаракта) [168].

Предварительные данные по эффективности терапии показали положительные результаты по показателям здоровья у пациентов; установлены увеличение массы тела, снижение показателей потовой пробы через 1 год приема таргетных препаратов. Производится замена препарата лумакафтор+ивакафтор у пациентов с низкой эффективностью лечения на более эффективный таргетный препарат элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор, а 2025 года планируется обеспечение этим препаратом пациентов с 2х летнего возраста. В динамике состояния здоровья ни у одного пациента не зафиксировано развития катаракты, у одного пациента отмечалась реакция в виде болей в животе и сыпи при первичном введении препарата лумакафтор+ивакафтор, препарат отменен и заменён на CFTR-модулятор элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор, отмечается

положительная динамика.

Со временем у пациентов нарастает количество осложнений, что усугубляет тяжесть течения заболевания, поэтому применение единых клинических рекомендаций позволяет сформировать раннюю тактику диагностики, терапии, мониторинга состояния здоровья пациентов с МВ в РБ и в РФ и реализует персонализированный подход для лечения детей и взрослых с МВ с использованием современной фармакогенетической терапии. Высокая эффективность применения таргетной терапии подтверждена клиническим опытом специалистов разных стран, в которых она широко используется на протяжении 10 лет, таргетная терапия разрабатывается с учетом эффекта мутации, применяется функциональная классификации [27,28].

Оказание медицинской помощи пациентам с МВ необходимо проводить с учетом региональных особенностей течения заболевания, спектра и частот мутаций в гене *CFTR* [29, 30, 31], что позволит улучшить качество и продолжительность жизни пациентов. Таким образом, в настоящее время наблюдается прогресс в понимании клинических и генетических аспектов муковисцидоза, однако все еще остается множество нерешенных вопросов, например, имеются проблемы реализации ранней диагностики муковисцидоза, организации ДНК-диагностики и прогнозирования рождения больных детей. Разработка алгоритмов диагностики и лечения заболевания с учетом спектра и частот мутаций в гене *CFTR* генофонда коренных народов позволит улучшить качество медико-генетической помощи в семьях высокого риска.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен сравнительный анализ показателей регистра муковисцидоза РФ и РБ, молекулярно-генетическая диагностика у пациентов с МВ в РБ. Пациенты с МВ из РБ наблюдаются в специализированных центрах муковисцидоза, которые созданы на функциональной основе в ГБУЗ РДКБ и ГБУЗ РКБ им. Г.Г. Куватова, медико-генетическое консультирование проводится в ГБУЗ РМГЦ, дополнительно пациенты получают лечение в федеральных центрах РФ.

В РБ терапия пациентов с муковисцидозом проводится в соответствии с клиническими рекомендациями «Кистозный фиброз (муковисцидоз)», 2021. Все пациенты получают терапию, проходят обследование и наблюдаются в центрах муковисцидоза. В первую очередь для правильной организации службы медицинской помощи пациентам с МВ в РБ необходимо всегда обеспечивать строгое соблюдение эпидемиологических безопасности при консультировании больных в региональном центре МВ для контроля инфекции и снижения частоты инфицирования пациентов.

Анализ эффективности терапии дал положительные результаты по показателям здоровья у пациентов; установлены увеличение массы тела, снижение показателей потовой пробы через 1 год приема таргетных препаратов, благодаря своевременно проведенной ДНК-диагностике, а также ранее проводимой терапии: дорназы-альфа, антибиотикотерапии, кинезиотерапии и тд.

В РБ демографические показатели среднего возраста пациентов, возраст установления диагноза близок с аналогичными показателями по РФ. Высокий охват и высокий процент случаев установления диагноза при проведении неонатального скрининга свидетельствует об его эффективности. Охват скринингом в РБ соответствовал целевому показателю, установленному для субъектов РФ - 99,6%, в ходе проведения исследования установлен диагноз муковисцидоз: в 2019 г. - 2, 2020 г. - 2, 2021 г. - 1, 2022 г. - 1 пациенту, 2023 г. - 1 пациенту.

В связи с началом эры таргетной терапии молекулярно-генетическая

диагностика при МВ стала обязательным условием в системе оказания персонализированной помощи пациентам. Охват генетическим исследованием в Республике Башкортостан был максимально высоким - 100 % по сравнению с РФ – 93%. Определен спектр и частота мутаций в гене *CFTR*. В результате проведенной ДНК диагностики идентифицировано 35 мутаций и комплексный аллель с.1399C>T (p.Leu467Phe, L467F) у 129 пациентов, у 5 пациентов выявлена 1 мутация, хотя имеются высокие показатели хлоридов в поте. Поэтому необходимо дальнейшее изучение данного вопроса. Чаще всего в РБ встречаются 15 вариантов нуклеотидной последовательности в гене *CFTR*: F508del (54,65%), E92K (13,18%), 3849+10kbC->T (4,64%), *CFTR*dele2-3 (3,48%), L138ins (2,71%), N1303K (1,55%), 394delTT (1,55%), S1196X (1,16%), p. [S466X; R1070Q] (1,16%), p.[G509D; E217G] (1,16%), 2143delT (1,16%), Y84X (1,16%), W1282X (1,16%), G194R (0,77%), 1525-1G>A (0,77%) и определение комплексного аллеля L467F;F508del, который приводит к не эффективности таргетной терапии препаратом «лумакафтор+ивакафтор». Частота встречаемости варианта F508del;L467F составила 8,11%, в Российской Федерации – 4,22%, также войдет в диагностическую панель.

Высокий уровень и доступность высокотехнологичных методов оказания медико-генетической помощи пациентам в РБ обеспечивает раннюю диагностику МВ и является залогом успешности терапии. Необходимо стремиться к полному генетическому обследованию больных, включая полногеномное секвенирование, MLPA анализ, проведение теста кишечных потенциалов больным, у которых не выявлены патогенные варианты гена *CFTR* стандартными методами.

Таким образом, нужно регулярно оценивать состояние проблемы в регионах и своевременно пополнять регистр МВ РФ актуальными данными для повышения качества оказания медицинской помощи пациентам с учетом региональных особенностей.

ВЫВОДЫ

1. Установлена неравномерная распространенность муковисцидоза на территории Республики Башкортостан, частота заболевания составила 1 на 35 000 новорожденных или 0,024 на 1000 населения, что ниже, чем в среднем по РФ, средний возраст пациентов в РБ в 2023 году составил $14,7 \pm 9,6$ лет, доля пациентов в возрасте ≥ 18 лет – 25,5%.

2. Объем форсированного выдоха за первую секунду выдоха у детей составил $80,1 \pm 26,7\%$, у взрослых – $70,3 \pm 22,6\%$, частота инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* - 42,4%. У 19% пациентов из Республики Башкортостан установлен «мягкий» фенотип, 81,0% - «тяжелый» фенотип, ранняя манифестация заболевания сопровождается тяжелым течением с ранним инфицированием органов дыхания и развитием осложнений, степень тяжести течения кистозного фиброза коррелирует с классом патогенности выявленных мутаций.

3. Молекулярный дефект заболевания идентифицирован в 96,12% семей. Выявлены 35 патогенных вариантов в гене CFTR у 124 из 129 пациентов, у 5 пациентов – по 1 мутации. 13 мутаций встречались с частотой более 1% - 88,76%, 22 мутации встречались с частотой менее 1%. 79% семей гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по варианту F508del, частота комплексного аллеля L467F;F508del составила 8,11%.

4. Выявлена генетическая гетерогенность МВ по спектру и частотам патогенных изменений в гене CFTR в этнических группах РБ, мутации 3849+10kbC->T, p.[G509D;E217G] - специфичны для пациентов татарской и башкирской этнической принадлежности, 394delTT и p.[S466X;R1070Q] - для татар.

5. Оптимизирован алгоритм ДНК-диагностики МВ на основе анализа 16 мутаций в гене CFTR: F508del, E92K, 3849+10kbC->T, CFTRdele2-3, L138ins, N1303K, 394delTT, S1196X, p. [S466X; R1070Q], p.[G509D; E217G], 2143delT, Y84X, W1282X, G194R, 1525-1G>A и L467F;F508del, 44 детям назначена таргетная терапия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение алгоритма молекулярной диагностики МВ на основе региональных особенностей распределения спектра и частот мутаций в гене *CFTR* для подтверждающей ДНК-диагностики МВ у детей из группы риска по результатам неонатального скрининга.

2. Рекомендуется определение гетерозиготного носительства мутаций в гене *CFTR* в районах Республики Башкортостан с высоким уровнем заболеваемости муковисцидозом.

3. Проведение медико-генетического консультирования при планировании беременности гетерозиготными носителями мутаций в гене *CFTR* из отягощенных семей с определением частых мутаций, характерных для региона, у второго родителя.

4. Рекомендуется внесение данных ДНК-диагностики в информационно-аналитическую систему Республики Башкортостан и в региональный регистр муковисцидоза для анализа генно-фенотипических корреляций и прогнозирования течения заболевания.

5. Использование результатов исследования для назначения *CFTR*-модуляторов и проведения пренатальной ДНК-диагностики в отягощенных семьях.

6. Внедрение результатов проведенного исследования с разъяснением алгоритма молекулярной диагностики муковисцидоза в образовательную программу студентов и клинических ординаторов Башкирского государственного медицинского университета.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Дальнейшее проведение современных молекулярно-генетических исследований для поиска молекулярных маркеров МВ с расширением диагностической молекулярно-генетической панели МВ.

2. Оценка эффективности применения персонализированного подхода при муковисцидозе.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МВ – муковисцидоз

CFTR – ген муковисцидозного трансмембранного регулятора (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator).

РФ – Российская Федерация

РБ – Республика Башкортостан

Критерии ERS/ATS – критерии American Thoracic Society и European Respiratory Society по спирометрии

MLPA – Multiplex ligation–dependent probe amplification

NGS – секвенирование нового поколения (next–generationsequencing)

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

ИРТ – иммунореактивный трипсин

КТ – компьютерная томография

WHO – Всемирная Организация Здравоохранения

ГБУЗ РДКБ – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Республиканская детская клиническая больница» г. Уфа

ГБУЗ РКБ им Г.Г. Куватова – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», г. Уфа

ГБУЗ РМГЦ – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Республиканский медико-генетический центр»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Капранов, Н. Муковисцидоз – современное состояние проблемы / Н.И. Капранов // Пульмонология. – 2006. – № 4. – С. 5–11.
2. Loubieres, Y. Association between genetically determined pancreatic status and lung disease in adult cystic fibrosis patients / Y. Loubieres, D. Grenet, B. Simon–Bouyet et al. // CHEST. – 2002. – V. 121. – №. 1. – P. 73–80.
3. Petrova, N.V. Zinchenko RA. Analysis of CFTR Mutation Spectrum in Ethnic Russian Cystic Fibrosis Patients / Petrova N.V., Kashirskaya N.Y., Vasilyeva T.A. [et al.] // Genes (Basel). – 2020. – Т. 11. – № 5. – P. 554.
4. Кистозный фиброз (муковисцидоз): Клинические рекомендации / А. А. Баранов, Л. С. Намазова–Баранова, С. И. Куцев и др.; Союз педиатров России, Ассоциация медицинских генетиков, Российское респираторное общество, Российское трансплантологическое общество, Ассоциация детских врачей Московской области. – Москва: Без издательства, 2021. – 225 с.
5. Pfyffer, J.X. Zit bei 46: Zitierend aus dem Worterbuch der / J.X. Pfyffer // Schweizerdeutsch. Sprache. – 1848. – Bd. 7. – S. 899.
6. Andersen, D. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac diseasea clinical and pathologic study / D. Andersen // N. Am. J. Dis. Child. – 1938. – V. 56. – P. 344–399.
7. Andersen, D.H. Celiac syndrome V. Genetics of cystic fibrosis of the pancreas with a consideration of etiology / D.H. Andersen, R.G. Hodges // Am. J. Dis. Child. – 1946. – V. 72. – P. 62–80.
8. Farber, S. The relation of pancreatic achylato meconium ileus / S. Farber // J. Pediat. – 1946. – V. 24. – P. 387–397.
9. Gibson, L.E. A test for concentratoin of electrolites in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine iontophoresis / L.E. Gibson, R.E. Cooke // Pediatrics. – 1959. – V. 23. – № 3. – P. 545–549.

10. Shwachman–Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity / S. Fabíola, V.A. Fabíola, T.C. Maristela [et al.] // *Clinics (Sao Paulo)*. – 2011. – V. 66. – № 6. – P. 979–83.
11. Ramsey, B. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group / B.W. Ramsey, M.S. Pepe, J.M. Quan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – V. 7. – № 1. – P. 23–30.
12. Corey, M.L. Longitudinal studies in cystic fibrosis / M.L. Corey // *Perspectives in cystic fibrosis. proc. 8th international cystic fibrosis congress* / Ed: J.M. Sturgess. – Toronto: Canada, 1980. – P. 246–255.
13. Berry, H.K. Dietary supplement and nutrition in children with cystic fibrosis / H.K. Berry, F.W. Kellog, M.M. Hunt [et al.] // *Am. J. Dis. Child.* – 1975. – V. 129. – № 2. – P. 165–71.
14. Crossley, J.R. Dried–blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn / J.R. Crossley, R.B. Elliott, P.A. Smith // *Lancet*. – 1979. – V. 3. – № 1. – P. 472.
15. Forrest, D.C. Screening for cystic fibrosis by a stool trypsin method / D.C. Forrest, B. Wilcken, G. Turner // *Arch. Dis.* – 1981. – V. 56. – № 2. – P. 151.
16. Littlewood, J. Comprehensive clinical and laboratory measurements in cystic fibrosis / J.M. Littlewood, J. Kelleher, M.S. Losowsky [et al.] // *Cystic Fibrosis: Horizons. 9th International Cystic Fibrosis Congress, Brighton* / Ed: D. Lawson. – Chichester: John Wiley. 1984. – P. 266.
17. Brett, M.M. Prediction of diagnosis. Prediction and diagnosis of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis: a follow–up study / M.M. Brett, A.T. Ghoneim, J.M. Littlewood // *J. Clin. Microbiol.* – 1988. – V. 26. – № 8. – P. 1565.
18. Mogayzel, P. Pulmonary clinical practice guidelines committee. Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health / P.J. Mogayzel, E.T. Naureckas, K.A. Robinson et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2013. – V. 1. – № 187. – P. 680.
19. Smyth, A. European cystic fibrosis society standards of care: best practice guidelines / A.R. Smyth, S.C. Bell, S. Bojcin [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2014. – V. 13. – № 1. – P. 23–42.

20. Голубцова, О. Особенности муковисцидоза у пациентов, жителей Чувашской Республики / О.И. Голубцова, С.А. Красовский, П.И. Павлов и др. // Пульмонология. 2013. – № 3. – С. 80–88.
21. Webber, В.А. The active cycle of breathing exercises / В.А. Webber // Cyst. Fibros. News. – 1990. – № 1. – P. 110–111.
22. Webber, В.А. Effects of postural drainage, incorporating forced expiration technique, on pulmonary function in cystic fibrosis / В.А. Webber, J.L. Hofmeyer, M.D. Moran, M.E. Hodson // Br. J. Dis. Chest. – 1986. – V. 80. – № 4. – P. 353 – 359.
23. Elkins, M. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis / M.R. Elkins, M. Robinson, В.Р. Rose [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2006. – V. 19. – № 354. – P. 229.
24. Pasque, M. Improved technique for bilateral lung transplantation: rationale and initial clinical experience / M.K. Pasque, J.D. Cooper, L.R. Kaiser [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 1990. – V. 49. – № 5. – P. 785–791.
25. Pearson, H. Human genetics: One gene, twenty years / H. Pearson // Nature. – 2009. – V. 9. № 460. – P. 164–169.
26. Муковисцидоз / под ред. Н.И. Капранова, Н.Ю. Каширской. // М.: Медпрактика–М., 2014. – 671 с.
27. Каширская, Н. Исторические и современные аспекты муковисцидоза в России / Н.Ю. Каширская, И.К. Ашерова, Е.И. Кондратьева, В.Д. Шерман // Педиатрическая фармакология. – 2013. – Т. 10. – № 6. – С. 53–60.
28. Капранов, Н. Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы: Методические рекомендации / Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, В.Д. Шерман, А.Ю. Воронкова. – М.: Медико–генетический научный центр РАМН, 2011. – 124 с.
29. Кондратьева Е. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2021 год / Е.И. Кондратьева, С.А. Красовский, М.А. Старинова, и др. // М. - ИД «МЕДПРАКТИКА-М». – 2022. - 68 с.
30. Fajac, I. New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis / I. Fajac, С.Е. Wainwright // Presse Med. – 2017. – V. 46. – № 6. – P. e165–e175.

31. Sherman, V. Newborn Screening for Cystic Fibrosis in Russia: A Catalyst for Improved Care / Sherman V., Kondratyeva E., Kashirskaya N., Voronkova A. [et al.] // *Int. J. neonatal Screen.* – 2020. – V. 6. – № 2. – P. 34.
32. Шерман, В.Д. Оценка эффективности неонатального скрининга на муковисцидоз в Российской Федерации / Шерман, В.Д., Куцев С.И., Ижевская В.Л. и др. // *Вопросы практической педиатрии.* 2022; – Т. 17, – № 3. – С. 12–19.
33. Castellani, C. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision / Castellani C., Duff AJA, Bell S.C. et al. // *J. Cyst. Fibros.* 2018. – V. 17. – № 2. – С. 153–178.
34. Modiano, G. Cystic fibrosis: cystic fibrosis and lactase persistence: a possible correlation / G. Modiano, B.M. Ciminelli, P.F. Pignatti // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2007. – V. 15. – № 3. – P. 255–259.
35. Morral, N. CA/GT microsatellite alleles within the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene are not generated by unequal crossingover / N. Morral, V. Nunes, T. Casals, X. Estivill // *Genomics.* – 1991. – V. 10. – P. 692–698.
36. Lucotte, G. Geographic and ethnic distribution of the more frequent cystic fibrosis mutations in Europe show that a founder effect is apparent for several mutant alleles / G. Lucotte, S. Hazout // *Hum. Biol.* – 1995. – V. 67. – № 4. – P. 561–576.
37. Красовский М. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2021 год / С.А. Красовского, М.А. Стариновой, и др. // СПб. – Благотворительный фонд «Острова». - 2023. - С.81.
38. Zvereff, V.V. Cystic fibrosis carrier screening in a North American population / V.V. Zvereff, H. Faruki, M. Marcia Edwards, K.J. Friedman // *Genet. Med.* – 2014. – V. 7. – P. 539–546.
39. Mogayzel, P.J. Cystic fibrosis in the year 2020: disease with a new face / P.J. Mogayzel, E.T. Naureckas, K.A. Robinson // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2020. – V. 109. – № 5. – P. 893–899.
40. Loo, T.W. Corrector VX–809 promotes interactions between cytoplasmic loop one and the first nucleotide-binding domain of CFTR / T.W. Loo, D.M. Clarke // *Biochem. Pharmacol.* – 2017. – V. 136. – P. 24–31.

41. Rowntree, R.K. The phenotypic consequences of CFTR mutations / R.K. Rowntree, A. Harris // *Ann. Hum. Genet.* – 2003. – V. 67. – P. 471–485.
42. Куцев, С.И. Таргетная терапия при муковисцидозе / С.И. Куцев, В.Л. Ижевская, Е.И. Кондратьева // *Пульмонология.* – 2021. – Т. 31. – № 2. – С. 226–236.
43. Mishra, A. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era / A. Mishra, A.R. Greaves, J. Massie // *Clin. Biochem. Rev.* – 2005. – V. 26. – P. 135–153.
44. Jentsch, T.J. Chloride channel diseases resulting from impaired transepithelial transport or vesicular function / T.J. Jentsch, T. Maritzen, A.A. Zdebik // *J. Clin. Invest.* – 2005. – V. 115. – № 8. – P. 2039–2046.
45. Kogan, I. CFTR directly mediates nucleotide-regulated glutathione flux / I. Kogan, M. Ramjeesingh, C. Li et al. // *EMBO J.* – 2003. – V. 22. № 9. – P. 1981–1989.
46. Koch, C. Early infection and progression of cystic fibrosis lung disease / C. Koch // *Pediatr. Pulmonol.* – 2002. – V. 34. – № 3. – P. 232–236.
47. Gallati, S. Disease-modifying genes and monogenic disorders: experience in cystic fibrosis / S. Gallati // *Appl. Clin. Genet.* – 2014. – V. 7. – P. 133–146.
48. CFTR2. Clinical and Functional Translation of CFTR [Электронный ресурс]. – Baltimore: US CF Foundation, Johns Hopkins University, The Hospital for Sick Children, 2011. – Режим доступа: <https://www.cftr2.org/> (дата обращения: 09.05.2022).
49. Jackson, J.J. Features of CFTR mRNA and implications for therapeutics development / J.J. Jackson, M. Yiyang, Tyshawn R. White, Jr. et al. // *Front. Genet.* – 2023. – V. 14. – P. 1166529.
50. Ефремова, А. Описание редких аллелей гена CFTR при муковисцидозе с помощью функциональных тестов и форсколинового теста на ректальных органоидах / А.С. Ефремова, Ю.Л. Мельяновская, Н.В. Булатенко и др. // *Пульмонология.* – 2021. – Т. 31. № 2. – С. 178–188.

51. Petrova, N. Clinical Presentation of the c.3844T>C (p.Trp1282Arg, W1282R) Variant in Russian Cystic Fibrosis Patients / N.V. Petrova, N.Y. Kashirskaya, S.A. Krasovskiy et al. // *Genes*. – 2020. – V. 11. – № 10. – P. 1137.
52. Veit, G. From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations / G. Veit, R.G. Avramescu, A. N. Chiang et al. // *Mol Biol Cell*. – 2016. – V. 27. № 3. – P. 424–433.
53. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» / под ред. Е.И. Кондратьевой, Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова. – М.: БОРГЕС. 2019. – 205 с.
54. Castellani, C. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani, H. Cuppens, M.Jr. Macek et al. // *Cyst. Fibros.* – 2008. – V. 7. – № 3. – P. 179–196.
55. Brennan, M.L. A Review of associated phenotypes, use of molecular diagnostic approaches, genetic characteristics, progress, and dilemmas / M.L. Brennan, I. Schrijver // *J. Mol. Diagn.* – 2016. – V. 18. – № 1. – P. 3–14.
56. Reznikov, L.R. Cystic fibrosis and the nervous system / L.R. Reznikov // *Chest*. – 2017. – V. 151. – P. 1147–1155.
57. Zhang, Y.-P. CFTR prevents neuronal apoptosis following cerebral ischemia reperfusion via regulating mitochondrial oxidative stress / Ya-Ping Zhang, Yong Zhang, Zhi-Bin Xiao et al. // *J. Mol. Med. (Berl.)*. – 2018. – V. 96. – № 7. – P. 611–620.
58. Swanson, K.V. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics / K.V. Swanson, M. Deng, P.-Y. Ting Jenny // *Nat. Rev. Immunol.* – 2019. – V. 19. – № 8. – P. 477–489.
59. Stout-Delgado, H. Age-dependent susceptibility to pulmonary fibrosis is associated with nlrp3 inflammasome activation / H.W. Stout-Delgado, J. ChoS., G. ChuS et al. // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2016. – V. 55. – № 2. – P. 252–63.
60. Lee, S. Regulation and function of the nucleotide binding domain leucine-rich repeat-containing receptor, pyrin domain-containing-3 inflammasome in

lung disease / S. Lee, G.Y. Suh, A.M. Choi // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2016. – V. 54. – № 2. – P. 151–160.

61. Favia, M. Mitochondria and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator dialogue: Some news / M. Favia, A.J. Atlante // *Rare Dis. Res. Treatment.* – 2016. – V. 1. – P. 23–29.

62. Favia, M. An intriguing involvement of mitochondria in cystic fibrosis / M. Favia, L. Bari, A. Bobba, A. Atlante // *J. Clin. Med.* – 2019. – V. 8. № 11. – P. 1890.

63. Xiang, S. Characterization of a critical role for CFTR chloride channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury / S.Y. Xiang, L.L. Ye, L.L. Duan et al. // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2011. – V. 32. – № 6. – P. 824–833.

64. Velsor, L. Mitochondrial oxidative stress in the lungs of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein mutant mice / L.W. Velsor, C. Kariya, R. Kachadourian, B.J. Day // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2006. – V. 35. – № 5. – P. 579–86.

65. Kelly–Aubert, M. GSH monoethyl ester rescues mitochondrial defects in cystic fibrosis models / M. Kelly–Aubert, S. Trudel, J. Fritsch // *Hum. Mol. Genet.* – 2011. – V. 20. – № 14. – P. 2745–2759.

66. Shmarina, T. TNF gene polymorphisms in cystic fibrosis patients: contribution to the disease progression / T. Shmarina, A. Pukhalsky, N. Petrova et al. // *J. Transl. Med.* – 2013. – V. 11. – P. 19.

67. Hull, J. Contribution of genetic factors other than CFTR to disease severity in cystic fibrosis / J. Hull, A.H. Thomson // *Thorax.* – 1998. – V. 53. – № 12. – P. 1018.

68. Зашихин, А. Морфофункциональная организация гладкой мышечной ткани бронхов различных генераций у человека / А.Л. Зашихин, Ю.В. Агафонов, Л.А. Заостровская и др. // *Пульмонология.* – 1997. – № 3. – С. 61–64.

69. Fellows, K. Selective bronchial arteriography in patients with cystic fibrosis and massive hemoptysis / K.E. Fellows, L. Stigol, S. Shuster et al. // *Radiology.* – 1975. – V. 114. № 3. – P. 551–556.

70. Ryland, D. The pulmonary circulation in cystic fibrosis / D. Ryland, L. Reid // *Thorax.* – 1975. – V. 30. – № 3. – P. 285.

71. Mc Glennen, R.C. Systemic amyloidosis complicating cystic fibrosis. A retrospective pathologic study / R.C. McGlennen, B.A. Burke, L.P. Dehner // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 1986. – V. 110. – № 10. – P. 879–884.
72. Handwerger, S. Glucose intolerance in cystic fibrosis / S. Handwerger, J. Roth, P. Gorden et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1969. – V. 28. – № 281. – P. 451–61.
73. Brugman, S.M. The reproductive system. / S.M. Brugman, L.M. Taussig // *Cystic Fibrosis*. – New York : Thieme–Stratton, 1984. – P. 323–337.
74. Репина, С. Состояние репродуктивной системы и алгоритм решения вопроса деторождения у мужчин с муковисцидозом / С.А. Репина, С.А. Красовский, Г.В. Шмарина и др. // *Альманах клинической медицины*. – 2019. – Т. 47. – № 1. – С. 26–37.
75. Jacquot, J. Bone disease in cystic fibrosis: new pathogenic insights opening novel therapies / J. Jacquot, M. Delion, S. Gangloff et al. // *J. Osteoporos.* – 2016. – V. 27. – № 4. – P. 1401–1412.
76. Henaff, C. Increased NF κ B activity and decreased Wnt/ β catenin signaling mediate reduced osteoblast differentiation and function in Δ F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) Mice / C. Le Henaff, R. Mansouri, D. Modrowski et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – № 29. – P. 18009–18017.
77. Delion, M. Overexpression of RANKL in osteoblasts: a possible mechanism of susceptibility to bone disease in cystic fibrosis / M. Delion, J. Braux, M.L. Jourdain et al. // *J. Pathol.* – 2016. – V. 240. – № 1. – P. 50–60.
78. Gore, A.P. A roadmap to the brittle bones of cystic fibrosis / A.P. Gore, S.H. Kwon, A.E. Stenbit // *J. Osteoporos.* – 2011. – V. 16. – P. 926045.
79. Mogayzel, P.J. Cystic fibrosis in the year 2020: disease with a new face / P.J. Mogayzel, E.T. Naureckas, K.A. Robinson // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2020. – V. 109. – № 5. – P. 893–899.
80. Eickmeier, O. Pathogenesis of fungal infections in cystic fibrosis / O. Eickmeier, A. Hector, A. Singh, D. Hart // *Curr. Fungal. Infect. Rep.* – 2016. – V. 10. – № 4. – P. 163–169.

81. Farrell, P. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report / P.M. Farrell, B.J. Rosenstein, T.B. White et al. // *J. Pediatr.* – 2008. – V. 153. – № 2. – P. 4–14.
82. Максимычева, Т. Оценка и корреляция нутритивного статуса у детей с муковисцидозом / Т.Ю. Максимычева, Е.И. Кондратьева, Т.Н. Сорвачёва // *Вопросы практической педиатрии.* – 2018. – Т. 13. – № 5. – С. 24 – 32.
83. Levy, L. Diagnostic spirometry in primary care: proposed standards for general practice compliant with American Thoracic Society and European Respiratory Society recommendations: a General Practice Airways Group (GPIAG) 1 document, in association with the association for respiratory Technology & Physiology (ARTP) 2 and education for health³ 1 www.gpiag.org 2 www.artp.org 3 www.educationforhealth.org.uk / L.M. Levy, P.H. Quanjer, R. Booker et al. // *Prim. Care Respir. J.* – 2009. – V. 18. – № 3. – P. 130–147.
84. Черняк, А. Этапы исследования респираторной функции: пособие для врачей / А.В. Черняк, Ж.К. Науменко, Г.В. Неклюдова и др.. – М., 2005. – 25 с.
85. Чучалин, А. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии / А.Г. Чучалин, З.Р. Айсанов, С.Ю. Чикина и др. // *Пульмонология.* – 2014. – № 6. – С. 11–24.
86. Demirkazik, F. High resolution CT in children with cystic fibrosis: correlation with pulmonary functions and radiographic scores / F.B. Demirkazik, O.M. Ariyurek, U. Ozcelik et al. // *Eur. J. Radiol.* – 2001. – V. 37. – № 1. – P. 54–59.
87. Helbich, T. Cystic fibrosis: CT assessment of lung involvement in children and adults / T.H. Helbich, G. Heinz–Peer, I. Eichler et al. // *Radiology.* – 1999. – V. 213. – № 2. – P. 537–44.
88. Кондратьева, Е. Обзор клинических рекомендаций «Кистозный фиброз (муковисцидоз)» (2021) / Е.И. Кондратьева, Е.Л. Амелина, М.Ю. Чернуха и др. // *Пульмонология.* – 2021. – Т. 31. – № 2. – С. 135–146.
89. Fraser K., Pulmonary hypertension and cardiac function in adult cystic fibrosis: role of hypoxemia / K.L. Fraser, D.E. Tullis, Z. Sasson et al. // *Chest.* – 1999. – V. 115. – № 5. – P.1321–1328.

90. Gan, C. NT-proBNP reflects right ventricular structure and function in pulmonary hypertension / C.T. Gan, G.P. McCann, J.T. Marcus et al. // *Eur. Respir. J.* – 2006. – V. 28. – № 6. – P. 1190–1194.
91. Чазова, И. Евразийские клинические рекомендации по диагностике и лечению легочной гипертензии / И.Е. Чазова, Т.В. Мартынюк, З.С. Валиева и др. // *Евразийский кардиологический журнал.* – 2020. – № 1. – С. 78–122.
92. Assis, D.N. Gastrointestinal disorders in cystic fibrosis / D.N. Assis, S.D. Freedman // *Clin. Chest. Med.* – 2016. – V. 37. – № 1. – P. 109–18.
93. Walkowiak, J. Fecal elastase-1 cut-off levels in the assessment of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis / J. Walkowiak, S. Nousia-Arvanitakis, A. Cade et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2002. – V. 1. – № 4. – P. 260–264.
94. Brodsky, J. Elevation of 1-hour plasma glucose during oral glucose tolerance testing is associated with worse pulmonary function in cystic fibrosis / J. Brodsky, S. Dougherty, M. Ramkrishna et al. // *Diabetes Care.* – 2011 – V. 34. – № 2. – P. 292–295.
95. Koch, C. European epidemiologic registry of cystic fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations / C. Koch, H. Cuppens, M. Rainisio et al. // *Pediatr. Pulmonol.* – 2001. – V. 31. – № 1. – P. 1–12.
96. O’Riordan, S.M.P. Cystic fibrosis-related diabetes in childhood / S.M.P. O’Riordan, M.T. Dattani, P.C. Hindmarsh // *Horm. Res. Paediatr.* – 2010. – V. 73. – P. 15–24.
97. Rosenecker, J. Genetic determination of diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. Multicenter Cystic Fibrosis Study Group / J. Rosenecker, I. Eichler, L. Kuhn et al. // *J. Pediatr.* – 1995. – V. 127. – № 3. – P. 441.
98. Lanng, S. Diabetes mellitus in cystic fibrosis: effect of insulin therapy on lung function and infections / S. Lanng, B. Thorsteinsson, J. Nerup, C. Koch // *Acta Paediatr.* – 1994. – V. 83. – № 8. – P. 849.

99. Петрова, Н.В. Молекулярно–генетические и клинико–генетические особенности муковисцидоза в российских популяциях: автореф. дис. ... д–ра биол. наук: 03.00.15 / Петрова Ника Валентиновна. – М., 2009. – 43 с.
100. Brownle, J. Detection of a cystic fibrosis modifier locus for meconium ileus on human chromosome 19q13 / J. Brownle, M. Corey, R. Rozmahel et al. // *Nat. Genet.* – 1999. – V. 22. – № 2. – P. 128–129.
101. Zielenski, J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis / J. Zielenski // *Respiration.* – 2000. – V. 67. – № 2. – P.117–133.
102. Kennedy, J. Pseudo–Bartter's syndrome in cystic fibrosis / J.D. Kennedy, R. Dinwiddie, C. Daman–Willems et al. // *Arch. Dis. Child.* – 1990. – V. 65. – № 7. – P. 786–787.
103. Stephens, S.E. Cystic fibrosis and renal disease / S.E. Stephens, S.P.A. Rigden // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2002. – V. 3. – № 2. – P. 135–138.
104. Nazareth, D. A review of renal disease in cystic fibrosis / D. Nazareth, M. Walshaw // *J. Cyst. Fibros.* – 2013. – V. 12. – № 4. – P. 309–317.
105. Толстова, В.Д. Характер поражения почек у детей, больных муковисцидозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Толстова Виктория Давидовна. – М., 2005. – 22 с.
106. Белая, Ж. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза / Ж.Е. Белая, К.Ю. Белова, Е.В. Бирюкова и др. // *Остеопороз и остеопатии.* – 2021. – Т. 24. – № 2. – С. 33.
107. Crossley, J.R. Dried blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn / J.R. Crossley, R.B. Elliott, P.A. Smith // *Lancet.* – 1979. – V. 8114. – № 1. – P. 472–474.
108. Cheillan, D. False–positive results in neonatal screening for cystic fibrosis based on a three–stage protocol (IRT/DNA/IRT): Should we adjust IRT cut–off to ethnic origin? / D. Cheillan, M. Vercherat, F. Chevalier–Porst et al. // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2005. – V. 28. – № 2. – P. 813–818.
109. Giusti, R. Elevated IRT levels in African–American infants: implications for newborn screening in an ethnically diverse population / R. Giusti, New York State

Cystic Fibrosis Newborn Screening Consortium // *Pediatr. Pulmonol.* – 2008. – V. 43. – № 2. – P. 638–641.

110. Castellani, C. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision / C. Castellani, A.J.A. Duff, S.C. Bell et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2018. – V. 17. – № 2. – P. 153–178.

111. Wiedemann B. The German cystic fibrosis quality assurance project: clinical features in children and adults / B.Wiedemann, G. Steinkamp, B. Sens et al. // *Eur. Respir. J.* – 2001. – V. 17. – № 6. – P. 1187–1194.

112. Cramton, S.E. Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesin in staphylococcus aureus and staphylococcus epidermidis / S.E. Cramton, F. Ulrich, G. Doring // *Infect. Immun.* – 2001. – V. 69. – № 6. – P. 4079–4085.

113. Doring G. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus / G. Doring, S.P. Conway, H.G. Heijerman et al. // *Eur. Respir. J.* – 2000. – V. 16. – № 4. – P. 749.

114. Каширская, Н.Ю. Клиническое значение нутритивного статуса в течении муковисцидоза / Н.Ю. Каширская, Ю.И. Васильева, Н.И. Капранов // *Медицинская генетика.* – 2005. – Т. 4. – № 1. – С. 43–47.

115. Turck D. ESPEN–ESPGHAN–ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis / D. Turck, C.P. Braegger, C. Colombo et al. // *Clin. Nutr.* – 2016. – V. 35. – № 3. – P. 557–577.

116. Taylor–Cousar, J.L. Tezacaftor–Ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for phe508del / J.L. Taylor–Cousar, A. Munck, E.F. McKone et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – V. 377. – № 21. – P. 2013–2023.

117. Chevalier, B. The influence of CFTR complex alleles on precision therapy of cystic fibrosis / B. Chevalier, A. Hinzpeter // *J. Cyst. Fibros.* – 2020. – V.19. – № Suppl 1. – P. 15–S18.

118. Baatallah, N. Cis variants identified in F508del complex alleles modulate CFTR channel rescue by small molecules / N. Baatallah, S. Bitam, N. Martin et al. // *Hum. Mutat.* – 2018. – V. 39. – № 4. – P. 506–514.

119. Patrick, A.F. Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del–CFTR mutation / A.F. Patrick, T.G. Theodore, D.S. Borowitz et al. // *Chest*. – 2012. – V. 142. – № 3. – P. 718–724.
120. Clancy, J.P. CFTR modulator theratyping: current status, gaps and future directions / J.P. Clancy, C.U. Cotton, S.H. Donaldson et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2019. – V. 18. – № 1. – P. 22–34.
121. Giuliano, K.A. Use of a high–throughput phenotypic screening strategy to identify amplifiers, a novel pharmacological class of small molecules that exhibit functional synergy with potentiators and correctors / K.A. Giuliano, S. Wachi, L. Drew et al. // *SLAS Discov.* – 2018. – V. 23. – № 2. – P. 111–121.
122. Lee, T.W.R. Evaluation of a new definition for chronic pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis patients / T.W.R. Lee, K.G. Brownlee, S.P. Conway et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2003. – V. 2. – № 1. – P. 29–34.
123. Zemanick, E.T. The airway microbiome in cystic fibrosis and implication for treatment / E.T. Zemanick, S.D. Sagel, J.K. Harris // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2011. – V. 23. – № 3. – P. 319–324.
124. Dodge, J.A. Cystic fibrosis mortality and survival in the UK: 1947–2003 / J.A. Dodge, Lewis P. A., et al. // *Eur Respir J.* – 2007. – V. 29. – № 3. – P. 522.
125. Shteinberg, M. Cystic fibrosis / M. Shteinberg, I. J. Haq, et al. // *Lancet*. – 2021. – V. 397. – № 10290. P. 2195–2211.
126. Каширская, Н.Ю. Муковисцидоз. Издание 2–е., переработанное и дополненное (под ред. Каширской Н.Ю., Капранова Н.И. и Кондратьевой Е.И.). – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА–М», 2021, 680 с. ISBN 978–5–98803–450–6.
127. Hosseini, et al. Genetic attributes of Iranian cystic fibrosis patients: the diagnostic efficiency of CFTR mutations in over a decade / N.A Hosseini, M. Kabiri et al. // *Front Genet.* – 2023 – V. 14.
128. Петрова, Н.В. Высокая частота сложных аллелей CFTR, ассоциированных с с.1521_1523delCTT (F508del) у российских больных муковисцидозом / Н.В. Петрова, Н.Ю. Каширская, Е.И. Кондратьева и др. // *ВМС Genom.* 2022 , 23 , 252.

129. Dork, T. Characterization of a novel 21–kb deletion, CFTRdele2,3(21kb), in the *CFTR* gene: a cystic fibrosis mutation of Slavic origin common in Central and East Europe / T. Dork, M. Macek Jr., F. Mekus et al. // *Hum. Genet.* – 2000. – V. 106. – P. 259–268.
130. Степанова, А.А. Мутация р.Е92К является основной причиной муковисцидоза у чувашей / А.А. Степанова, А.В. Абрикова, и др. // *Генетика.* – 2012. – Т. 48. – № 7. – P. 863.
131. Castellani, C. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani, H. Cuppens, Jr. Macek et al. // *J. Cyst. Fibr.* – 2008. – V. 7. – P. – 179–196.
132. Kondratyeva, E.I. Clinical and Functional Characteristics of the E92K CFTR Gene Variant in the Russian and Turkish Population of People with Cystic Fibrosis / Kondratyeva E.I., Melyanovskaya J. L. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24. – P. 6351.
133. Orenti, A. European cystic fibrosis Society Patient Registry / A. Orenti, A. Zolin A, et al. // *Patient Registry (ECFSPR) Annual Report 2016.* – 2018. – P.1390.
134. Kondratyeva, E.I. Russian Registry of Patients with Cystic Fibrosis: Lessons and Perspectives / E.I. Kondratyeva, A.Y. Voronkova et al. // *Pulmonologiya.* – 2023. – V. 33. – P. 171–181.
135. Шадрина, В. В. Эпидемиологические и клинические особенности «средне–уральского» патогенного варианта нуклеотидной последовательности L138ins в гене *CFTR* при муковисцидозе / В. В. Шадрина, С. А. Красовский и др. // *Медицинский вестник Кавказа.* – 2020. – Т. 15. – № 2
136. Красовский, С.А. Генетическая характеристика больных муковисцидозом в Российской Федерации по данным Национального регистра (2014) / Красовский С.А., Каширская Н.Ю., и др // *Пульмонология.* – 2016. – Т. – 26. – № 2. – С. 133–151.
137. Bobadilla, J.L. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations – correlation with incidence data and application to screening / J.L. Bobadilla, M. Macek Jr. et al. // *Hum. Mutat.* – 2002. – V. 19. – P. 575–606.

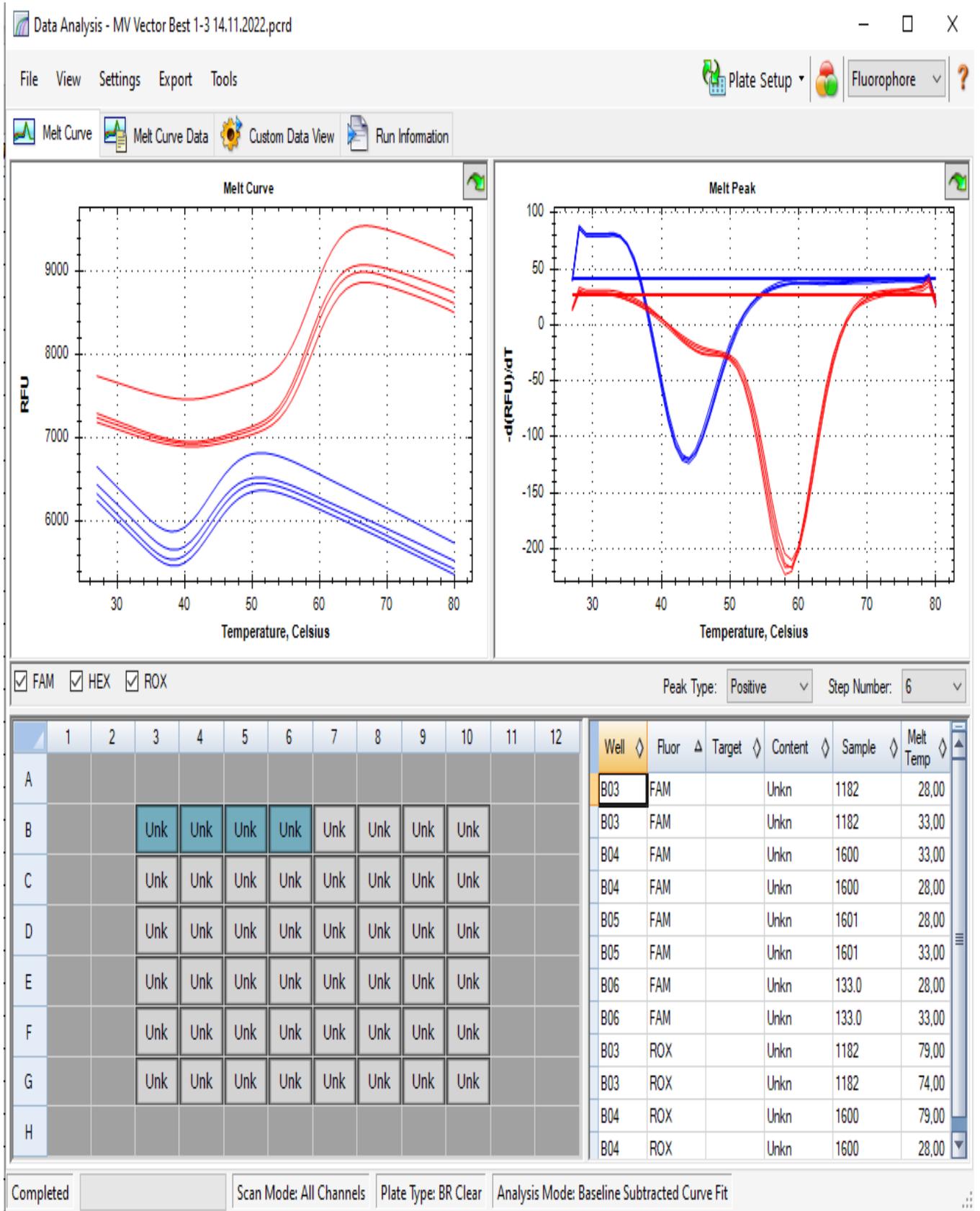
138. Butnariu, L.I. Genetic modifying factors of cystic fibrosis phenotype: a challenge for modern medicine / L.I. Butnariu, E. Cojocaru, C. Rusu et al. // *J. Clin. Med.* – 2021. – V. 10. – № 24. – P. 5821.
139. Макаров, А.Х. Особенности спектра частых мутаций гена *CFTR* в Карачаево–Черкессии / Петрова Н. В., Тимковская Е.Е. и др. // *Современные проблемы науки и образования.* – 2016. – № 2.
140. Petrova, N. Genotype–phenotype correlation in Russian cystic fibrosis patients with S466X–R1070Q complex allele / N. Petrova, N. Kashirskaya et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2019. – V. 14. – № 1. – P. 42.
141. Wahab, A. Rare CFTR mutation 1525–1G>A in a Pakistani patient / A. Wahab, G.A. Thani, S.T. Dawod et al. // *J. Trop. Peditr.* – 2004. – V. 50. – № 2. – P. 120.
142. Петрова, Н. В. Особенности спектра и частот мутаций гена *CFTR* в популяциях Юга Кавказа и Северного Кавказа / Петрова Н.В., Каширская Н. Ю. и др. // *Медицинский вестник Северного Кавказа.* – 2020. Т. – 15. № – 2. – С. 174–178.
143. Корытина, Г.Ф. Анализ спектра мутаций и полиморфных локусов гена трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза в Башкортостане / Г.Ф. Корытина, Т.В. Викторова, Г.В. Байкова, Э.К. Хуснутдинова // *Генетика.* – 2002. – Т. 38. – № 9. – С. 1270–1275.
144. Petrova, N. Ethnic Differences in the Frequency of CFTR Gene Mutations in Populations of the European and North Caucasian Part of the Russian Federation / Petrova N., Balinova N. et al. // *Front Genet.* – 2021. V. – 12. – P 678374.
145. Петрова, Н. В. Молекулярно–генетические и клинико–генотипические особенности муковисцидоза в российских популяциях: автореф. дис. ... д–ра мед. наук / Н. В. Петрова. – М., 2009. – 42 с.
146. Dugueperoux, I. The CFTR 3849+10kbC>T and 2789+5G>A alleles are associated with a mild CF phenotype / I. Dugueperoux, M. De Braekeleer // *Eur. Respir. J.* – 2005. – V. 25. – № 3. – P. 468–473.

147. Stanke, F. Diversity of the basic defect of homozygous CFTR mutation genotypes in humans / Stanke F, Ballmann M. et al. // *Med Genet.* – 2008. V. –45. – № – 1. P. 47–54.
148. Смирнихина, С.А. Генная терапия наследственных заболеваний с помощью технологии CRISPR/Cas9 *in vivo* / С.А. Смирнихина, А.В. Лавров // *Медицинская генетика.* – 2016. – Т. 15. – № 9. – С. 3–11.
149. Goor, F. Rescue of CF airway epithelial cell function *in vitro* by a CFTR potentiator, VX–770 / F. Van Goor, S. Hadida, P.D. Grootenhuis et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – V. 106. – № 44. – P. 18825–30.
150. Taylor–Cousar, J.L. Tezacaftor–Ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del / J.L. Taylor–Cousar, A. Munck, E.F. McKone et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – V. 77. – № 21. – P. 2013–2023.
151. Flume, P.A. Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del–CFTR mutation / P.A. Flume, T.G. Liou, D.S. Borowitz et al. // *Chest.* – 2012. – V. 142. – № 3. – P. 718–724.
152. Richards, S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology Genetics in medicine / S. Richards, N. Aziz, S. Bale et al. // *Genet. Med.* – 2015. – V. 17. – № 5. – P. 405–424.
153. Sui, H. Gene therapy for cystic fibrosis: Challenges and prospects / H. Sui, X. Xu, Y. Su et al. // *Front. Pharmacol.* – 2022. – V. 13. – P. 1015926.
154. Корытина Г.Ф. Полиморфизм генов воспалительных цитокинов (TNA, LTA, IL1B, IL1–RN) у больных с муковисцидозом и хроническими бронхолегочными заболеваниями / Г.Ф. Корытина, Л.И. Бабенкова, Д.Г. Янбаева, Э.И. Эткина // *Медицинская генетика.* – 2004. – №7. С. – 333–339.
155. Ziętkiewicz, E. CFTR mutations spectrum and the efficiency of molecular diagnostics in Polish cystic fibrosis patients / Ziętkiewicz E., Rutkiewicz E., Pogorzelski A., Klimek B., Voelkel K. et al. // *PLoS One.* – 2014. – V. 9. № 2. – P. e89094.

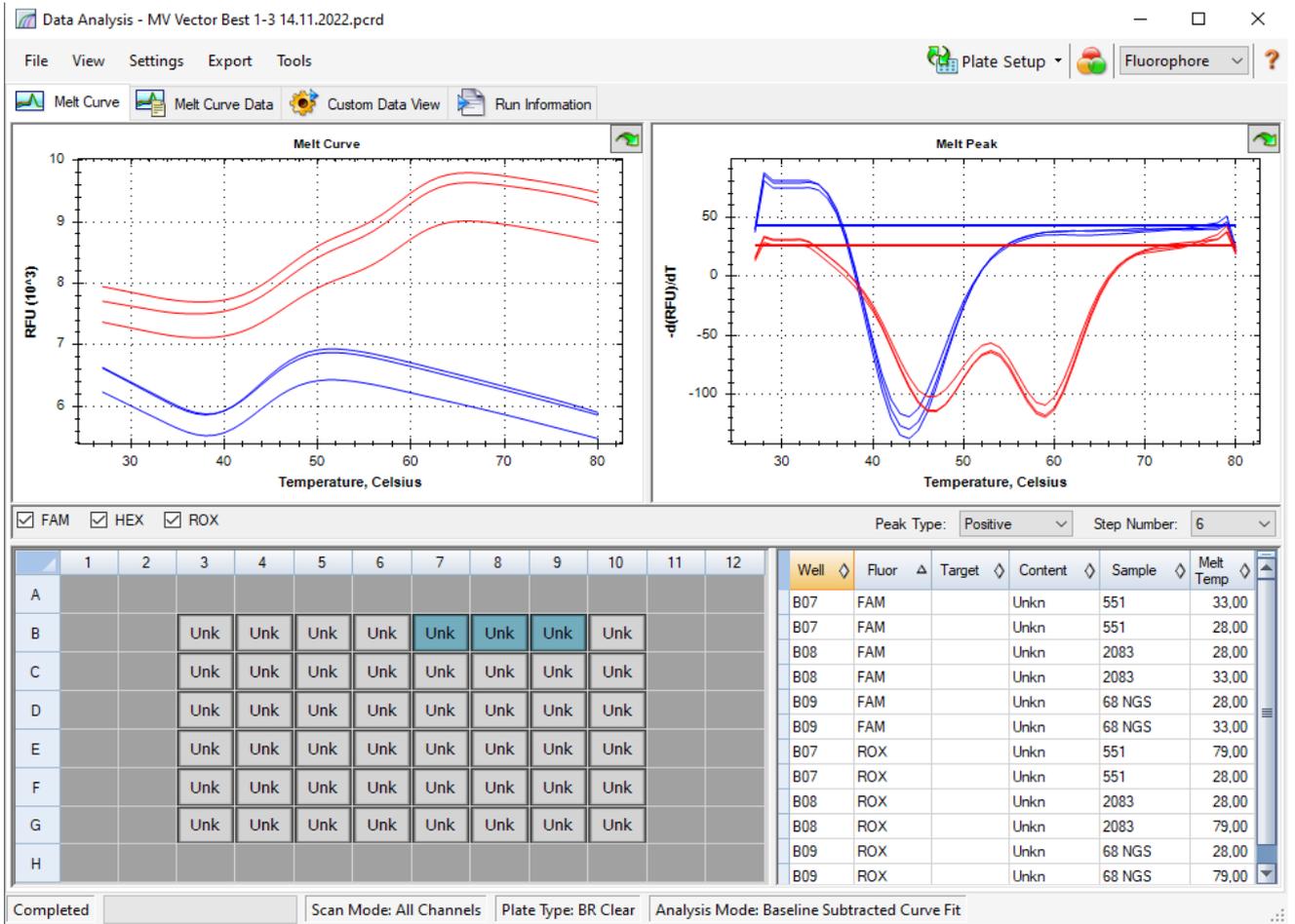
156. Raynal, C. Classification model relative to splicing for variants of unknown clinical significance: application to the CFTR gene / C. Raynal, D. Baux, C. Theze et al. // *Hum Mutat.* – 2013. – V. 34. – P. 774–784.
157. Dork, T. Detection of more than 50 different CFTR mutations in a large group of German cystic fibrosis patients / T. Dork, F. Mekus, K., Schmidt et al. // *Hum. Genet.* – 1994. – V. 94. – № 5. – P. 533–42.
158. Nikolic, A. Clinical presentation of mild cystic fibrosis in a Serbian patient homozygous for the CFTR mutation c.1393–1G>A / A. Nikolic, N. Radlovic, J. Dinic, K. Milosevic, D. Radojkovic // *J. Cyst. Fibros.* – 2014. – V. 13. – № 1. – P. 111–3.
159. Indika, N. Phenotypic spectrum and genetic heterogeneity of cystic fibrosis in Sri Lanka / N. Indika, D. Vidanapathirana, H. Dilanthi et al. // *BMC Med. Genet.* – 2019. – V. 20. – № 1. – P. 89.
160. Ramalho, A. Five percent of normal cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA ameliorates the severity of pulmonary disease in cystic fibrosis / A. Ramalho, S. Beck, M. Meyer et al. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2002. – V. 27. – № 5. – P. 619–27.
161. Ashavaid, T. Application of multiplex ARMS and SSCP/HD analysis in molecular diagnosis of cystic fibrosis in Indian patients / T. Ashavaid, A. Kondkar, A. Dherai, R. et al. // *Mol. Diagn.* – 2005. – V. 9. – № 2. – P. 59–66.
162. Distribution of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Mutations in a Cohort of Patients Residing in Palestine / I. Siryani, M. Jama, N. et al. // *PLoS One.* – 2015. – V. 10. – № 7. – P. e0133890.
163. Nami, N. Genetic attributes of Iranian cystic fibrosis patients: the diagnostic efficiency of CFTR mutations in over a decade / H. Nami, A. Kabiri, Z. Motlagh et al. // *Front. Genet.* – 2023. – V. 14. – P. 1140034.
164. Абрамов, Д. Высокая частота носительства в российской популяции мутаций гена CFTR, ассоциированных с муковисцидозом, и мутаций гена PAH, ассоциированных с фенилкетонурией / Д.Д. Абрамов, В.В. Кадочникова, Е.Г. Якимова и др. // *ВЕСТНИК РГМУ.* – 2015. – Т. 4. – С. 32–35.

165. Brandt, N. Screening for carriers of cystic fibrosis. result of a pilot study among pregnant women / N. Brandt, M. Schwartz, F. Skovby // *Ugeskr. Laeger.* – 1994. – V. 156. – № 25. – P. 3751–3757.
166. Brock, D. The incidence of cystic fibrosis in Scotland calculated from heterozygote frequencies / D. Brock, A. Gilfillan, S. Holloway // *Clin. Genet.* – 1998. – V. 53. – № 1. – P. 47–49.
167. Gasparini, P. Analysis of 31 CFTR mutations by polymerase chain reaction/oligonucleotide ligation assay in a pilot screening of 4476 newborns for cystic fibrosis / P. Gasparini, E. Arbustini, G. Restagno et al. // *J. Med. Screen.* – 1999. – V. 6. – № 2. – P. 67–69.
168. Кондратьева, Е. Эффективность и безопасность тройной терапии (элексакафтор / тезакафтор / ивакафтор) у детей с муковисцидозом: 12-месячное наблюдение / Кондратьева Е.И., Одинаева Н.Д., Паснова Е.В. и др. // *Пульмонология.* 2024. – Т. 34. – № 2. – С. 218–224.
169. Behar, D.M. Nationwide genetic analysis for molecularly unresolved cystic fibrosis patients in a multiethnic society: Implications for preconception carrier screening / D.M. Behar, O. Inbar, M. Shteinberg, et al. // *Mol. Genet. Genom. Med.* – 2017.-№5, - P. 223–236.
170. Readthrough-induced misincorporated amino acid ratios guide mutant-specific therapeutic approaches for two CFTR nonsense mutations / A. Premchandrar, R. Ming, A. Baiad, et al.. // *Front. Pharmacol.* – 2024. - №15. - P. 1389586.
171. McGinniss, M.J. Extensive Sequencing of the CFTR Gene: Lessons Learned from the First 157 Patient Samples. M.J. McGinniss, C. Chen, J.B. Redman, et al. // *Hum. Genet.* 2005;118:331–338. doi: 10.1007/s00439-005-0065-1

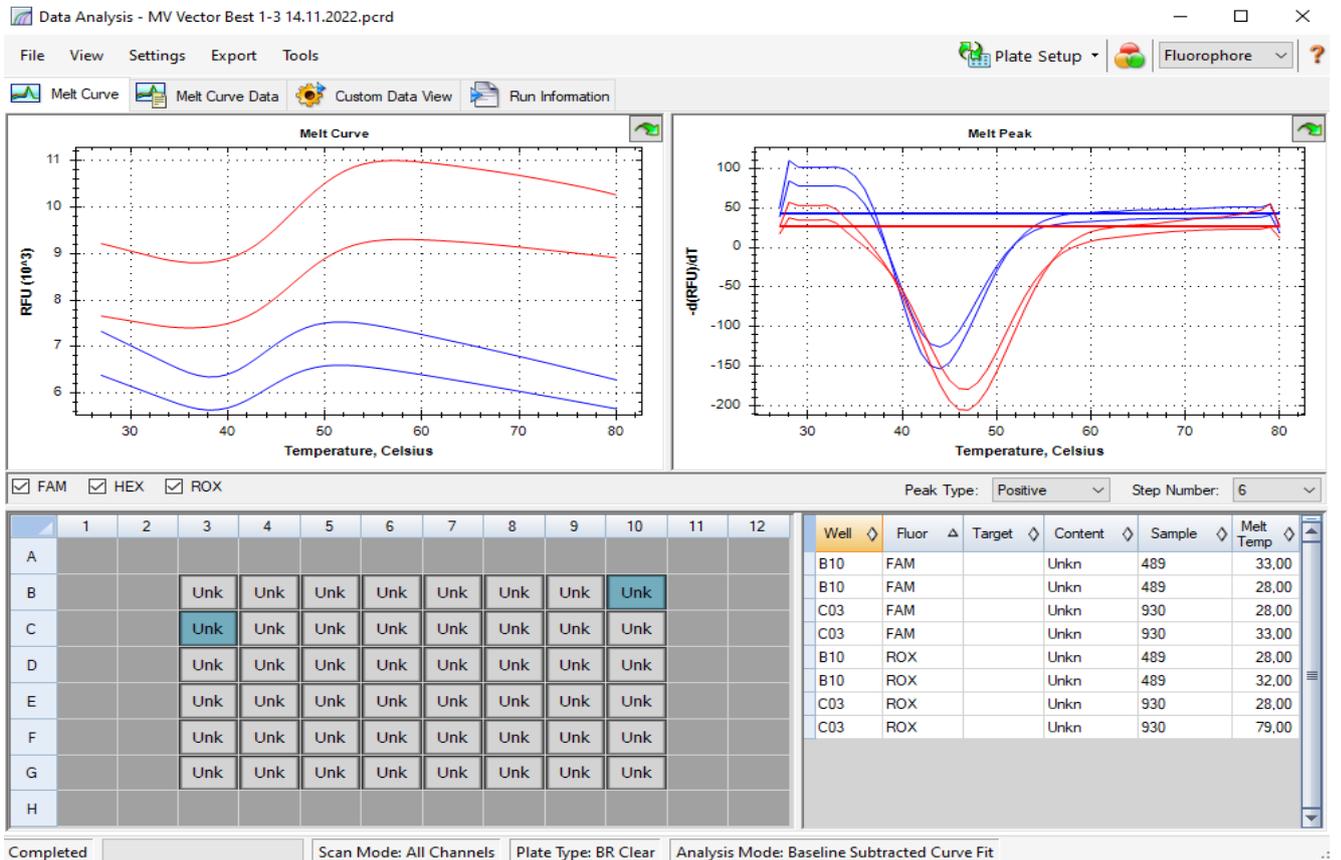
ПРИЛОЖЕНИЕ А



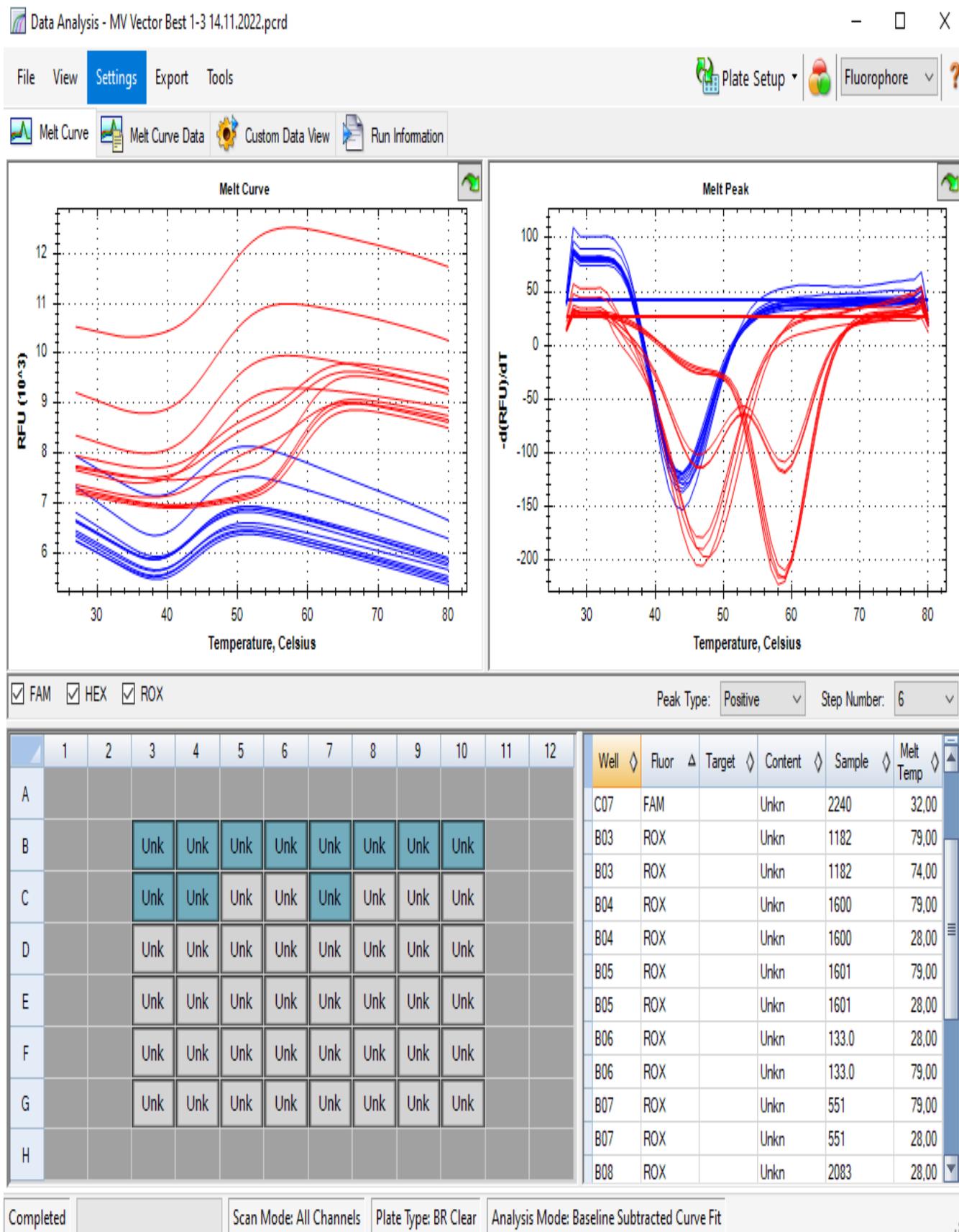
3 образца с мутацией F508del в гетерозиготном состоянии (генотип F508del/N)



2 образца без мутации F508del (генотип N/N)

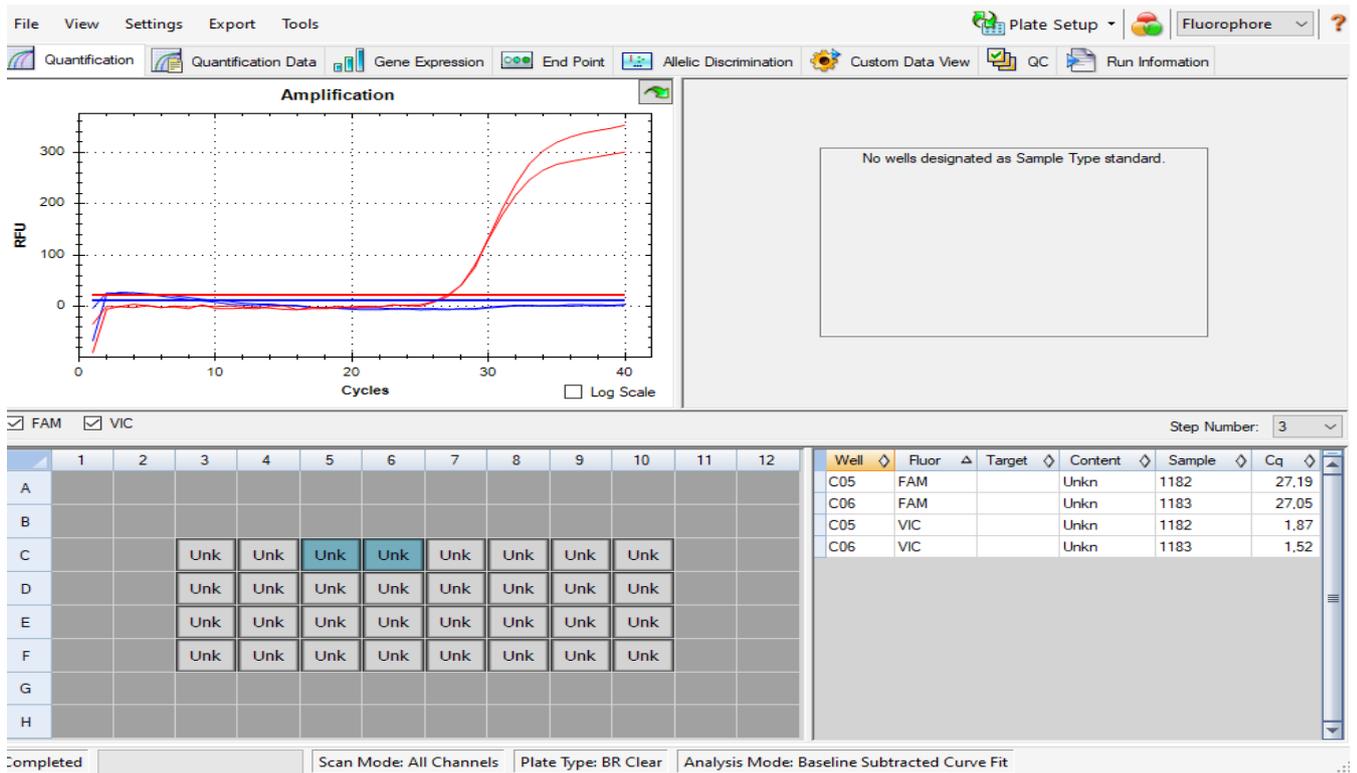


Все образцы

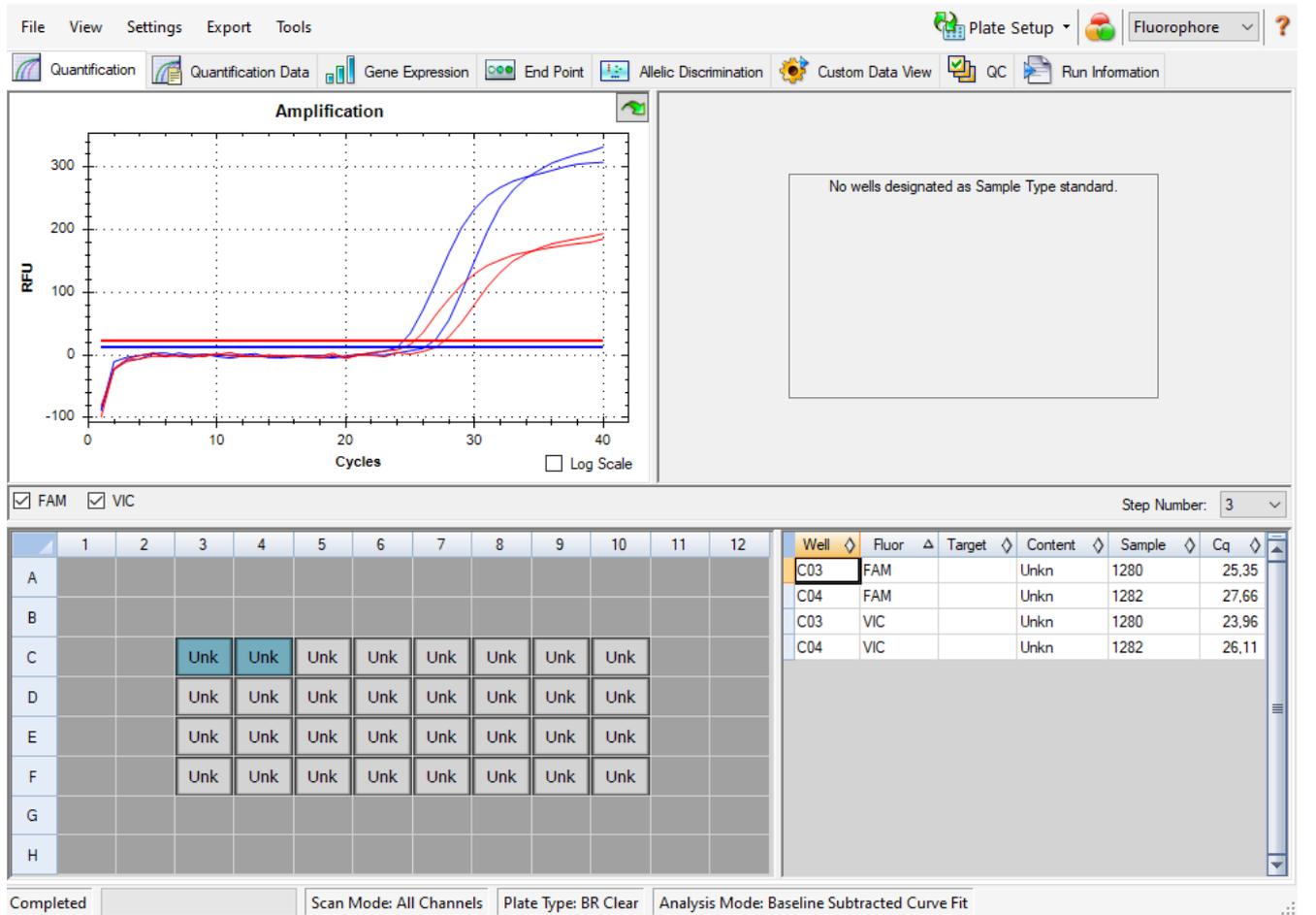


Сделано методом аллель-специфичной ПЦР синтеза ДНК в реальном времени с флуоресцентной детекцией

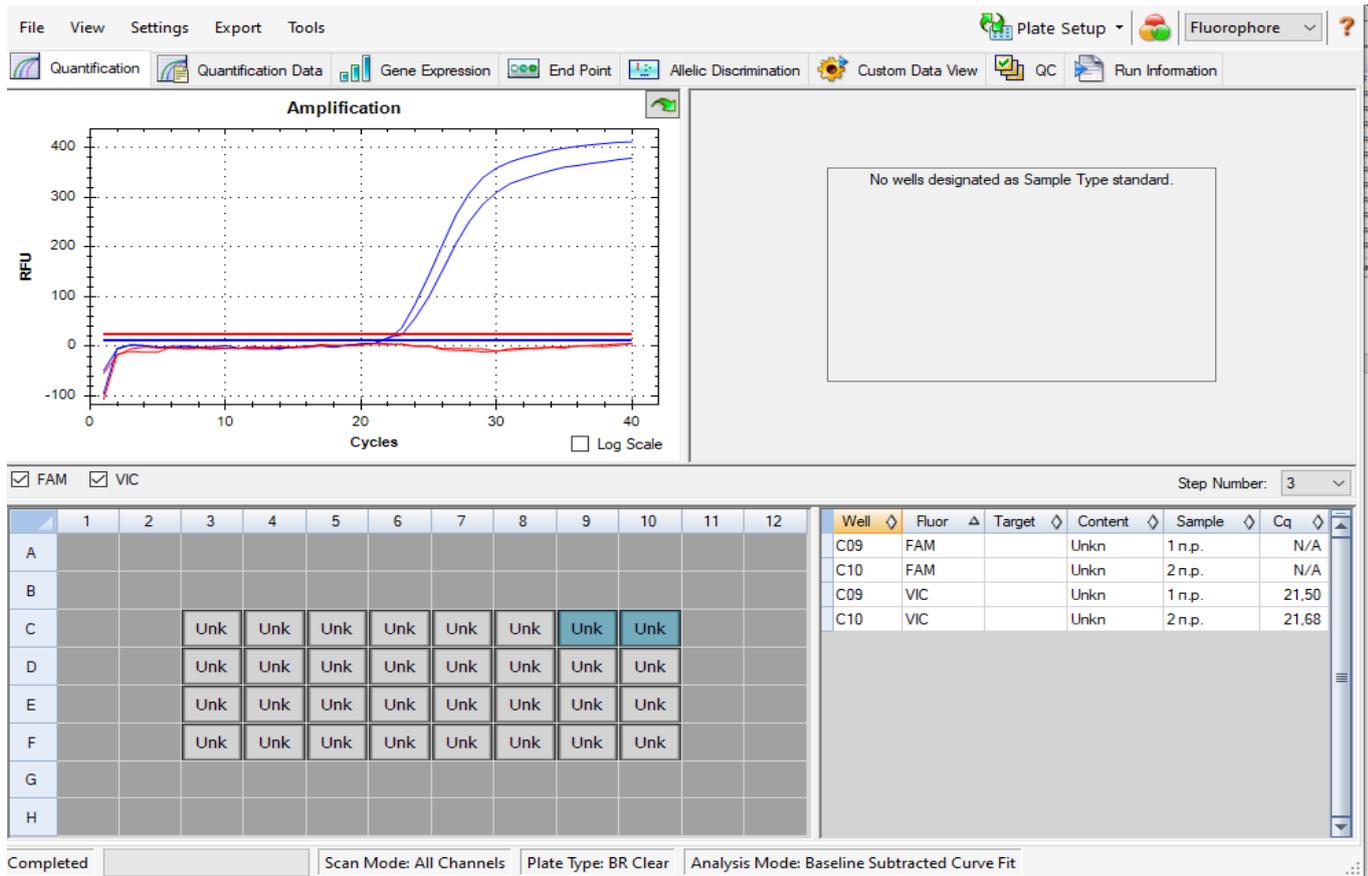
2 образца с мутацией F508del в гомозиготном состоянии (генотип F508del/F508del)



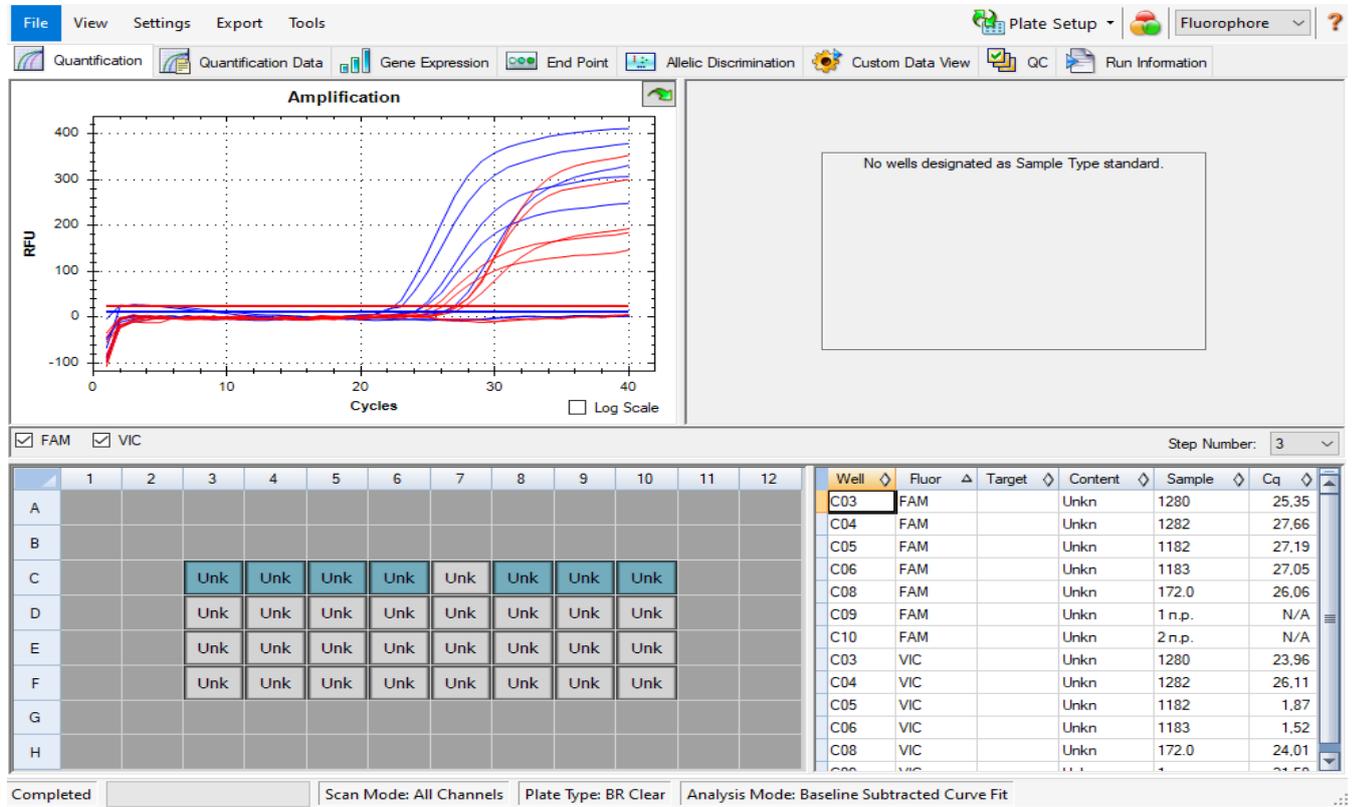
2 образца с мутацией F508del в гетерозиготном состоянии (генотип F508del/N)



2 образца без мутации F508del (генотип N/N)



Все образцы



Все образцы

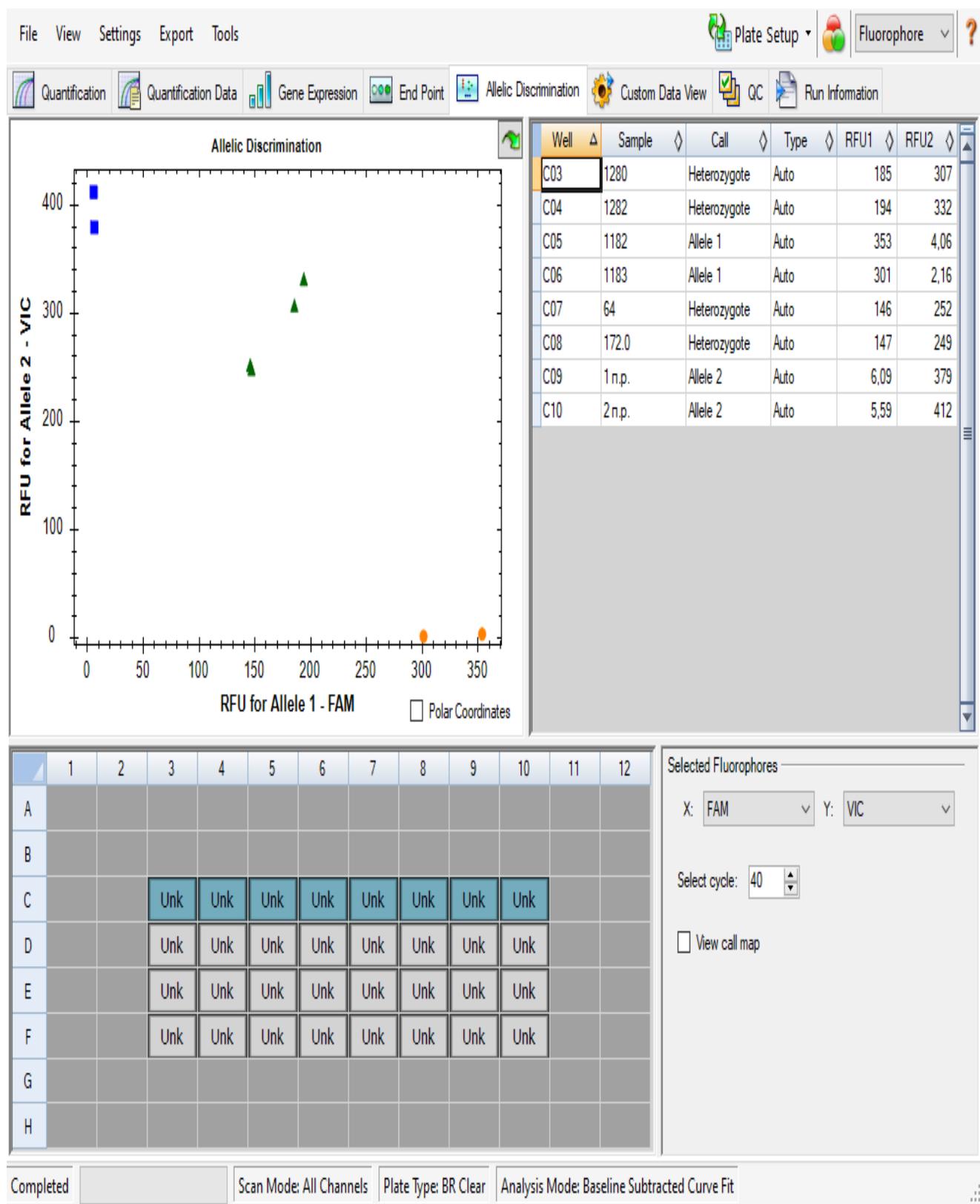


Рисунок 11 - Кривые плавления вариантов в гене *CFTR*. Идентификация патогенных вариантов в гене *CFTR*. Сделано наборами Вектор-Бест (кривые плавления) 4 образца с мутацией F508del в гомозиготном состоянии (генотип F508del/F508del).

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица 22. Группы вариантов гена *CFTR* в соответствии
с их клинической значимостью (по CFTR2) [48]

№ п.п.	Название по cDNA(ordered 5' to 3')	Название по положению в белке	Традиционное название	rsID
2	c.(?-1270)_(53+1_54-1)del	No protein name	CFTRdelePr-1	not found
3	c.-9_14del23	No protein name	124del23bp	rs397508136
4	c.-8G>C	No protein name	125G/C	rs1800501
5	c.(?_1)_(53+1_54-1)del	p.Glu2GlyfsX17	CFTRdele1	not found
6	c.1A>G	p.Met1Val	M1V	rs397508328
7	c.4C>T	p.Gln2X	Q2X	rs397508740
8	c.[4C>T;7A>T]	p.[Gln2X;Arg3Trp]	Q2X;R3W	not found
9	c.11C>A	p.Ser4X	S4X	rs397508173
10	c.14C>T	p.Pro5Leu	P5L	rs193922501
11	c.38C>T	p.Ser13Phe	S13F	rs397508635
12	c.44T>C	p.Leu15Pro	L15P	rs1562876459
13	c.50delT	p.Phe17SerfsX8	182delT	rs397508742

Продолжение приложения В таблицы 22

14	c.50dupT	p.Ser18GlnfsX 27	175insT	rs397508714
15	c.(53+1_54- 1)_(164+1_165- 1)del	No protein name	CFTRdele2	not found
16	c.(53+1_54- 1)_(489+1_490- 1)del	No protein name	CFTRdele2-4	not found
17	c.53+1G>T	No protein name	185+1G->T	rs397508746
18	c.54- 5940_273+10250d el21kb	p.Ser18ArgfsX 16	CFTRdele2,3	not found
19	c.54- 5842_489+401del	No protein name	IVSI- 5842_IVS4+401del	not found
20	c.57G>A	p.Trp19X	W19X	rs397508762
21	c.79G>A	p.Gly27Arg	G27R	rs397508796
22	c.79G>T	p.Gly27X	G27X	rs397508796
23	c.88C>T	p.Gln30X	Q30X	rs397508815
24	c.91C>T	p.Arg31Cys	R31C	rs1800073
25	c.92G>T	p.Arg31Leu	R31L	rs149353983
26	c.115C>T	p.Gln39X	Q39X	rs397508168
27	c.137C>A	p.Ala46Asp	A46D	rs151020603
28	c.164+1G>A	No protein name	296+1G->A	rs397508243

Продолжение приложения В таблицы 22

29	c.164+1G>T	No protein name	296+1G->T	rs397508243
30	c.(164+1_165-1)_(1584_+1_1585-1)del(2619+1_2620-1)_(2988+1_2989-1)del	No protein name	CFTRdele3-10,14b-16	not found
31	c.164+28A>G	No protein name	296+28A->G	rs34010645
32	c.164+2T>C	No protein name	296+2T->C	rs121908800
33	c.164+4dupT	No protein name	296+3insT	rs397508244
34	c.165-3C>T	No protein name	297-3C->T	rs200337193
35	c.165-1G>A	No protein name	297-1G->A	rs397508249
36	c.166G>A	p.Glu56Lys	E56K	rs397508256
37	c.168delA	p.Glu56AspfsX35	300delA	rs397508269
38	c.169T>G	p.Trp57Gly	W57G	rs397508272
39	c.170G>A or c.171G>A	p.Trp57X	W57X	rs397508279 or rs121909025

Продолжение приложения В таблицы 22

40	c.175dupA	p.Arg59LysfsX 10	306insA	rs397508294
41	c.174_177delTAG A	p.Asp58GlufsX 32	306delTAGA	rs397508295
42	c.178G>A	p.Glu60Lys	E60K	rs77284892
43	c.178G>T	p.Glu60X	E60X	rs77284892
44	c.200C>T	p.Pro67Leu	P67L	rs368505753
45	c.202A>T	p.Lys68X	K68X	not found
46	c.220C>T	p.Arg74Trp	R74W	rs115545701
47	c.223C>T	p.Arg75X	R75X	rs121908749
48	c.224G>A	p.Arg75Gln	R75Q	rs1800076
49	c.233dupT	p.Trp79LeufsX 32	365-366insT	rs397508366
50	c.254G>A	p.Gly85Glu	G85E	rs75961395
51	c.262_263delTT	p.Leu88IlefsX2 2	394delTT	rs121908769
52	c.263T>A or c.263T>G	p.Leu88X	L88X	rs397508412
53	c.271G>A	p.Gly91Arg	G91R	rs121908750
54	c.(273+1_274- 1)_(1116+1_1117- 1)del	No protein name	CFTRdele4-7	not found
55	c.(273+1_274- 1)_(1584+1_1585- 1)del	No protein name	CFTRdele4-10	not found

Продолжение приложения В таблицы 22

56	c.(273+1_274-1)_(1679+1_1680-1)del	No protein name	CFTRdele4-11	not found
57	c.(273+1_274-1)_(1116+1_1117-1)del(1584+1_1585-1)_(3468+1_3469-1)del	No protein name	CFTR50kdel	not found
58	c.273+1G>A	No protein name	405+1G->A	rs121908791
59	c.273+3A>C	No protein name	405+3A->C	rs74467662
60	c.274-2A>G	No protein name	406-2A->G	rs397508426
61	c.274-1G>A	No protein name	406-1G->A	rs121908792
62	c.274G>A	p.Glu92Lys	E92K	rs121908751
63	c.274G>T	p.Glu92X	E92X	rs121908751
64	c.292C>T	p.Gln98X	Q98X	rs397508461
65	c.293A>G	p.Gln98Arg	Q98R	rs397508464
66	c.296C>T	p.Pro99Leu	P99L	rs397508467
67	c.305T>G	p.Leu102Arg	L102R	rs397508490
68	c.310delA	p.Arg104Glufs X3	442delA	rs397508499

Продолжение приложения В таблицы 22

69	c.313delA	p.Ile105SerfsX 2	444delA	rs121908801
70	c.325_327delTATinsG	p.Tyr109Glyfs X4	457TAT->G	rs121908798
71	c.327T>A	p.Tyr109X	Y109X	rs397508528
72	c.328G>C	p.Asp110His	D110H	rs113993958
73	c.330C>A	p.Asp110Glu	D110E	rs397508537
74	c.346G>A	p.Glu116Lys	E116K	rs397508571
75	c.349C>T	p.Arg117Cys	R117C	rs77834169
76	c.349C>G	p.Arg117Gly	R117G	rs77834169
77	c.350G>A	p.Arg117His	R117H	rs78655421
78	c.350G>C	p.Arg117Pro	R117P	rs78655421
79	c.350G>T	p.Arg117Leu	R117L	rs78655421
80	c.[350G>A;1210-12T[5]]	p[.Arg117His; No protein name]	R117H;5T	not found
81	c.[350G>A;1210-12T[7]]	p.[Arg117His; No protein name]	R117H;7T	not found
82	c.358G>A	p.Ala120Thr	A120T	rs201958172
83	c.366T>A	p.Tyr122X	Y122X	rs79660178
84	c.377G>A	p.Gly126D	G126D	rs397508609
85	c.409delC	p.Leu137Serfs X16	541delC	rs397508672
86	c.413_415dupTAC	p.Leu138dup	L138ins	rs397508679

Продолжение приложения В таблицы 22

87	c.416A>G	p.His139Arg	H139R	rs76371115
88	c.424delA	p.Ile142PhefsX 11	556delA	rs387906363
89	c.429delT	p.Phe143Leufs X10	557delT	rs387906364
90	c.442delA	p.Ile148LeufsX 5	574delA	rs121908770
91	c.443T>C	p.Ile148Thr	I148T	rs35516286
92	c.470_483delTTA GTTTGATTTAT	p.Phe157X	602del14	rs1554379887
93	c.481T>G	p.Tyr161Asp	Y161D	rs397508729
94	c.489+1G>T	No protein name	621+1G->T	rs78756941
95	c.489+3A>G	No protein name	621+3A->G	rs377729736
96	c.494T>C	p.Leu165Ser	L165S	rs397508736
97	c.509G>A	p.Arg170His	R170H	rs1800079
98	c.531delT	p.Ile177Metfs X12	663delT	rs121908771
99	c.531dupT	p.Gly178Trpfs X5	663insT	rs121908771
100	c.532G>A	p.Gly178Arg	G178R	rs80282562
101	c.543_546delTAG T	p.Leu183Phefs X5	675del4	rs397508750
102	c.571T>G	p.Phe191Val	F191V	rs141482808
103	c.575A>G	p.Asp192Gly	D192G	rs397508758
104	c.577G>A	p.Glu193Lys	E193K	rs397508759

Продолжение приложения В таблицы 22

105	c.577G>T	p.Glu193X	E193X	rs397508759
106	c.579+1G>T	No protein name	711+1G->T	rs77188391
107	c.579+3A>G	No protein name	711+3A->G	rs397508761
108	c.579+5G>A	No protein name	711+5G->A	rs78440224
109	c.580-2A>G	No protein name	712-2A->G	rs193922730
110	c.580-1G>T	No protein name	712-1G->T	rs121908793
111	c.580G>A	p.Gly194Arg	G194R	rs376008630
112	c.580G>T	p.Gly194X	G194X	not found
113	c.581G>T	p.Gly194Val	G194V	rs397508763
114	c.595C>T	p.His199Tyr	H199Y	rs121908802
115	c.601G>A	p.Val201Met	V201M	rs138338446
116	c.613C>T	p.Pro205Ser	P205S	rs121908803
117	c.617T>G	p.Leu206Trp	L206W	rs121908752
118	c.647G>A	p.Trp216X	W216X	rs397508775
119	c.653T>A	p.Leu218X	L218X	rs397508777
120	c.658C>T	p.Gln220X	Q220X	rs397508778
121	c.675T>A	p.Cys225X	C225X	rs397508781
122	c.680T>G	p.Leu227Arg	L227R	rs397508782
123	c.695T>A	p.Val232Asp	V232D	rs397508783
124	c.709C>G	p.Gln237Glu	Q237E	rs397508784

Продолжение приложения В таблицы 22

125	c.717delG	p.Leu240X	849delG	rs1554380497
126	c.722_743delGGA GAATGATGATG AAGTACAG	p.Gly241Glufs X13	852del22	rs121908804
127	c.(743+1_744- 1)_(1584+1_1585- 1)dup	No protein name	CFTRdup6b-10	not found
128	c.744-2A>G	No protein name	876-2A->G	rs1057516646
129	c.761delA	p.Lys254Argfs X7	892delA	not found
130	c.772A>G	p.Arg258Gly	R258G	rs191456345
131	c.794T>G	p.Met265Arg	M265R	rs148519623
132	c.803delA	p.Asn268Ilefs X17	935delA	rs121908772
133	c.825C>G	p.Tyr275X	Y275X	rs193922532
134	c.828C>A	p.Cys276X	C276X	rs397508799
135	c.850dupA	p.Met284Asnfs X3	977insA	rs786204693
136	c.861_865delCTT AA	p.Asn287Lysfs X19	991del5	rs397508805
137	c.868C>T	p.Gln290X	Q290X	rs397508808
138	c.933C>G or c.933C>A	p.Phe311Leu	F311L	rs121909016 (second rsID not reported)
139	c.935_937delTCT	p.Phe312del	F312del	rs121908768

Продолжение приложения В таблицы 22

140	c.941G>A	p.Gly314Glu	G314E	rs75763344
141	c.948delT	p.Phe316Leufs X12	1078delT	rs121908744
142	c.958T>G	p.Leu320Val	L320V	rs144476686
143	c.987delA	p.Gly330Glufs X39	1119delA	rs397508824
144	c.988G>T	p.Gly330X	G330X	rs79031340
145	c.1000C>T	p.Arg334Trp	R334W	rs121909011
146	c.1001G>A	p.Arg334Gln	R334Q	rs397508137
147	c.1001G>T	p.Arg334Leu	R334L	rs397508137
148	c.1006_1007insG	p.Ile336SerfsX 28	1138insG	rs397508138
149	c.1007T>A	p.Ile336Lys	I336K	rs397508139
150	c.1013C>T	p.Thr338Ile	T338I	rs77409459
151	c.1021T>C	p.Ser341Pro	S341P	rs397508144
152	c.1021_1022dupT C	p.Phe342Hisfs X28	1154insTC	rs387906360
153	c.1029delC	p.Cys343X	1161delC	rs121908774
154	c.1037T>C	p.Leu346Pro	L346P	rs397508146
155	c.1040G>A	p.Arg347His	R347H	rs77932196
156	c.1040G>C	p.Arg347Pro	R347P	rs77932196
157	c.1046C>T	p.Ala349Val	A349V	rs121909021
158	c.1054C>T	p.Arg352Trp	R352W	rs193922497
159	c.1055G>A	p.Arg352Gln	R352Q	rs121908753
160	c.1057C>T	p.Gln353X	Q353X	rs397508148

Продолжение приложения В таблицы 22

161	c.[1075C>A;1079C>A]	p.[Gln359Lys; Thr360Lys]	Q359K/T360K	rs397508152
162	c.1076A>G	p.Gln359Arg	Q359R	rs397508153
163	c.1081delT	p.Trp361Glyfs X8	1213delT	rs387906361
164	c.1116+1G>A	No protein name	1248+1G->A	rs397508158
165	c.1117-1G>A	No protein name	1249-1G->A	rs797045160
166	c.1130dupA	p.Gln378Alafs X4	1259insA	rs397508163
167	c.1135G>T	p.Glu379X	E379X	rs397508165
168	c.1155_1156dupT A	p.Asn386Ilefs X3	1288insTA	rs121908785
169	c.1202G>A or c.1203G>A	p.Trp401X	W401X	rs397508174 or rs397508175
170	c.1209+1G>A	No protein name	1341+1G->A	rs397508176
171	c.1210-12T[5]	No protein name	5T	rs1805177
172	c.1210-33_1210-6GT[11]T[4]	No protein name	5T;TG11	not found
173	c.1210-33_1210-6GT[12]T[4]	No protein name	5T;TG12	not found
174	c.1210-33_1210-6GT[13]T[4]	No protein name	5T;TG13	not found

Продолжение приложения В таблицы 22

175	c.1210-12T[7]	No protein name	7T	rs1805177
176	c.1210-12T[9]	No protein name	9T	rs1805177
177	c.1210-2A>C	No protein name	1342-2A->C	rs397508179
178	c.1211delG	p.Gly404Aspfs X38	1343delG	rs1235397597
179	c.1240C>T	p.Gln414X	Q414X	rs397508183
180	c.1301C>A or c.1301C>G	p.Ser434X	S434X	rs367934560
181	c.1301_1307delCA CTTCT	p.Ser434Leufs X6	1429del7	rs397508186
182	c.1327G>T	p.Asp443Tyr	D443Y	rs147422190
183	c.1327_1330dupG ATA	p.Ile444ArgfsX 3	1461ins4	rs397508189
184	c.1330_1331delAT	p.Ile444X	1460delAT	rs397508190
185	c.1340delA	p.Lys447Argfs X2	1471delA	rs397508192
186	c.1358T>C	p.Leu453Ser	L453S	rs1562895128
187	c.1364C>A	p.Ala455Glu	A455E	rs74551128
188	c.1365_1366delG G	p.Val456Cysfs X25	1497delGG	rs797045161
189	c.1367T>C	p.Val456Ala	V456A	rs193922500

Продолжение приложения В таблицы 22

190	c.1373delG	p.Gly458Aspfs X11	1504delG	rs397508196
191	c.(1392+1_1393-1) (1584+1_1585-1)del	No protein name	CFTRdele10	not found
192	c.1393-1G>A	No protein name	1525-1G->A	rs397508200
193	c.1393-2A>G	No protein name	1525-2A->G	rs397508201
194	c.1397C>A or c.1397C>G	p.Ser466X	S466X	rs121908805
195	c.[1397C>G;3209 G>A]	p.[Ser466X;Arg 1070Gln]	S466X;R1070Q	not found
196	c.1400T>C	p.Leu467Pro	L467P	rs139573311
197	c.1408A>G	p.Met470Val	M470V	rs213950
198	c.1418delG	p.Gly473Glu fsX54	1548delG	rs397508205
199	c.1420G>A	p.Glu474Lys	E474K	rs756206533
200	c.1466C>A	p.Ser489X	S489X	rs397508211
201	c.1475C>T	p.Ser492Phe	S492F	rs121909017
202	c.1477_1478delCA	p.Gln493Valfs X10	1609delCA	rs121908775
203	c.1477C>T	p.Gln493X	Q493X	rs77101217
204	c.1487G>A	p.Trp496X	W496X	rs397508216
205	c.1505T>C	p.Ile502Thr	I502T	rs397508222

Продолжение приложения В таблицы 22

206	c.1519_1521delAT C	p.Ile507del	I507del	rs121908745
207	c.1521_1523delCT T	p.Phe508del	F508del	rs113993960
208	c.[1521_1523delC TT;3080T>C]	p.[Phe508del;Ile 1027Thr]	F508del;I1027T	not found
209	c.1523T>G	p.Phe508Cys	F508C	rs74571530
210	c.[1523T>G;3752 G>A]	p.[Phe508Cys; Ser1251Asn]	F508C;S1251N	not found
211	c.1538A>G	p.Asp513Gly	D513G	rs397508225
212	c.1545_1546delTA	p.Tyr515X	1677delTA	rs121908776
213	c.1558G>T	p.Val520Phe	V520F	rs77646904
214	c.1572C>A	p.Cys524X	C524X	rs121908754
215	c.1573C>T	p.Gln525X	Q525X	rs397508227
216	c.1584G>A	p.Glu528Glu	1716G/A	rs1800095
217	c.1584+1G>A	No protein name	1716+1G->A	rs397508230
218	c.(1584+1_1585- 1)_(1679+1_1680- 1)del	No protein name	CFTRdele11	not found
219	c.1585-2A>G	No protein name	1717-2A->G	rs397508233
220	c.1585-1G>A	No protein name	1717-1G->A	rs76713772
221	c.1585-8G>A	No protein name	1717-8G->A	rs193922503

Продолжение приложения В таблицы 22

222	c.1624G>T	p.Gly542X	G542X	rs113993959
223	c.1645A>C or c.1647T>G or c.1647T>A	p.Ser549Arg	S549R	rs121908757 or rs121909005
224	c.1646G>A	p.Ser549Asn	S549N	rs121908755
225	c.1648G>T	p.Gly550X	G550X	rs397508247
226	c.1650delA	p.Gly551Valfs X8	1782delA	rs397508251
227	c.1651G>A	p.Gly551Ser	G551S	rs121909013
228	c.1652G>A	p.Gly551Asp	G551D	rs75527207
229	c.1654C>T	p.Gln552X	Q552X	rs76554633
230	c.1657C>T	p.Arg553X	R553X	rs74597325
231	c.1670delC	p.Ser557Phefs X2	1802delC	rs397508257
232	c.1673T>C	p.Leu558Ser	L558S	rs193922504
233	c.1675G>A	p.Ala559Thr	A559T	rs75549581
234	c.1679+1G>C	No protein name	1811+1G->C	rs397508263
235	c.1679G>A	p.Arg560Lys	R560K	rs80055610
236	c.1679G>C	p.Arg560Thr	R560T	rs80055610
237	c.1679+1G>A	No protein name	1811+1G->A	rs397508263
238	c.1680-886A>G	No protein name	1811+1634A->G or 1811+1.6kbA->G	rs397508266
239	c.1680-877G>T	No protein name	1811+1643G->T	rs397508261

Продолжение приложения В таблицы 22

240	c.1680-1G>A	No protein name	1812-1G->A	rs121908794
241	c.1680A>C	p.Arg560Ser	R560S	rs397508267
242	c.1682C>A	p.Ala561Glu	A561E	rs121909047
243	c.1684G>A	p.Val562Ile	V562I	rs1800097
244	c.1687T>A	p.Tyr563Asn	Y563N	rs121909006
245	c.1687T>G	p.Tyr563Asp	Y563D	rs121909006
246	c.1689C>A	p.Tyr563X	Y563X	not found
247	c.1692delA	p.Asp565Metfs X7	1824delA	rs193922505
248	c.1703delT	p.Leu568Cysfs X4	1833delT	rs397508274
249	c.1705T>G	p.Tyr569Asp	Y569D	rs397508276
250	c.1721C>A	p.Pro574His	P574H	rs121908758
251	c.1724T>A	p.Phe575Tyr	F575Y	rs773569201
252	c.1727G>C	p.Gly576Ala	G576A	rs1800098
253	c.1731C>A	p.Tyr577X	Y577X	rs55928397
254	c.1736A>G	p.Asp579Gly	D579G	rs397508288
255	c.1753G>T	p.Glu585X	E585X	rs397508296
256	c.1763A>T	p.Glu588Val	E588V	rs397508297
257	c.1766+1G>A	No protein name	1898+1G->A	rs121908748
258	c.1766+1G>C	No protein name	1898+1G->C	rs121908748

Продолжение приложения В таблицы 22

259	c.1766+1G>T	No protein name	1898+1G->T	rs121908748
260	c.(1766+1_1767-1)_(2619+1_2620-1)del	No protein name	CFTRdele13,14a	not found
261	c.1766+2T>A	No protein name	1898+2T->A	rs1554389062
262	c.1766+3A>G	No protein name	1898+3A->G	rs397508298
263	c.1766+5G>T	No protein name	1898+5G->T	rs121908796
264	c.1792_1798delA AAACTA	p.Lys598Glyfs X11	1924del7	rs397508303
265	c.1801A>T	p.Ile601Phe	I601F	rs397508306
266	c.1820_1903del84	p.Met607_Gln 634del	1949del84	rs121908777
267	c.1826A>G	p.His609Arg	H609R	rs397508310
268	c.1837G>A	p.Ala613Thr	A613T	rs201978662
269	c.1841A>G	p.Asp614Gly	D614G	rs201124247
270	c.1853T>C	p.Ile618Thr	I618T	rs139468767
271	c.1865G>A	p.Gly622Asp	G622D	rs121908759
272	c.1882G>C or c.1882G>A	p.Gly628Arg	G628R	rs397508316
273	c.1911delG	p.Gln637Hisfs X26	2043delG	rs1554389296

Продолжение приложения В таблицы 22

274	c.1920_1921dupT A	p.Ser641IlefsX 23	2053insTA	rs1584812217
275	c.1923_1931delins A	p.Ser641Argfs X5	2055del9->A	rs121908779
276	c.1943delA	p.Asp648Valfs X15	2075delA	rs1481564133
277	c.1966G>T	p.Glu656X	E656X	rs397508323
278	c.1973_1985del13i nsAGAAA	p.Arg658Lysfs X4	2105- 2117del13insAGAA A	rs121908780
279	c.1986_1989delA ACT	p.Thr663Argfs X8	2118del4	rs397508326
280	c.1990G>T	p.Glu664X	E664X	rs397508327
281	c.2002C>T	p.Arg668Cys	R668C	rs1800100
282	c.2012delT	p.Leu671X	2143delT	rs121908812
283	c.2017G>T	p.Gly673X	G673X	rs397508331
284	c.2051_2052delA AinsG	p.Lys684Serfs X38	2183AA->G	rs121908799
285	c.2052dupA	p.Gln685Thrfs X4	2184insA	rs121908786
286	c.2052delA	p.Lys684Asnfs X38	2184delA	rs121908746
287	c.2053dupC	p.Gln685Profs X84	2185insC	rs797045162
288	c.2053C>T	p.Gln685X	Q685X	rs397508336
289	c.2125C>T	p.Arg709X	R709X	rs121908760
290	c.2128A>T	p.Lys710X	K710X	rs75115087

Продолжение приложения В таблицы 22

291	c.2143C>T	p.Gln715X	Q715X	rs397508343
292	c.2158C>T	p.Gln720X	Q720X	rs397508346
293	c.2175dupA	p.Glu726Argfs X4	2307insA	rs121908787
294	c.2195T>G	p.Leu732X	L732X	rs397508350
295	c.2215delG	p.Val739Tyrfs X16	2347delG	rs397508353
296	c.2233G>T	p.Gly745X	G745X	rs397508354
297	c.2241_2248delG ATACTGC	p.Ile748SerfsX 28	2372del8	rs397508355
298	c.2249C>T	p.Pro750Leu	P750L	rs140455771
299	c.2260G>A	p.Val754Met	V754M	rs150157202
300	c.2290C>T	p.Arg764X	R764X	rs121908810
301	c.2353C>T	p.Arg785X	R785X	rs374946172
302	c.2374C>T	p.Arg792X	R792X	rs145449046
303	c.2421A>G	p.Ile807Met	I807M	rs1800103
304	c.2423_2424dupA T	p.Ser809IlefsX 13	2556insAT	rs387906359
305	c.2453delT	p.Leu818Trpfs X3	2585delT	rs397515498
306	c.2463_2464delTG	p.Ser821Argfs X4	2594delGT	rs797045156
307	c.2464G>T	p.Glu822X	E822X	rs397508378
308	c.2490+1G>A	No protein name	2622+1G->A	rs141158996

Продолжение приложения В таблицы 22

309	c.2491G>T	p.Glu831X	E831X	rs397508387
310	c.2502dupT	p.Asp835X	2634insT	not found
311	c.2506G>T	p.Asp836Tyr	D836Y	rs201386642
312	c.2537G>A or c.2538G>A	p.Trp846X	W846X	rs397508393 or rs267606722
313	c.2547C>A	p.Tyr849X	Y849X	rs397508394
314	c.2551C>T	p.Arg851X	R851X	rs121909012
315	c.2562T>C or c.2562T>G or c.2562T>A	p.Thr854Thr	T854T	rs1042077
316	c.2583delT	p.Phe861Leufs X3	2711delT	rs397508399
317	c.2589_2599delA ATTTGGTGCT	p.Ile864SerfsX 28	2721del11	rs397508400
318	c.2601dupA	p.Val868Serfs X28	2732insA	rs397508405
319	c.(2619+1_2620- 1)_(3367+1_3368- 1)del	No protein name	CFTRdele14b-17b	not found
320	c.2620-26A>G	No protein name	2752-26A->G	rs201716473
321	c.2645G>A	p.Trp882X	W882X	rs397508413
322	c.2657+2_2657+3i nsA	No protein name	2789+2insA	rs397508414
323	c.2657+5G>A	No protein name	2789+5G->A	rs80224560

Продолжение приложения В таблицы 22

324	c.2658-1G>C	No protein name	2790-1G->C	rs397508416
325	c.2668C>T	p.Gln890X	Q890X	rs79633941
326	c.2735C>A	p.Ser912X	S912X	rs121909034
327	c.2735C>T	p.Ser912Leu	S912L	rs121909034
328	c.2737_2738insG	p.Tyr913X	2869insG	rs121908788
329	c.2739T>A	p.Tyr913X	Y913X	rs149790377
330	c.2763_2764dupAG	p.Val922GlnfsX2	2896insAG	rs397508431
331	c.2770G>A	p.Asp924Asn	D924N	rs201759207
332	c.2780T>C	p.Leu927Pro	L927P	rs397508435
333	c.2797A>G	p.Arg933Gly	R933G	rs397508436
334	c.2810dupT	p.Val938GlyfsX37	2942insT	rs193922510
335	c.2822delT	p.Leu941GlnfsX27	2954delT	rs762844777
336	c.2825delT	p.Ile942ThrfsX26	2957delT	rs397508441
337	c.2834C>T	p.Ser945Leu	S945L	rs397508442
338	c.2855T>C	p.Met952Thr	M952T	rs142773283
339	c.2859_2890delACATTCTGTTCTTCAAGCACCTATGTCAACCC	p.Leu953PhefsX11	2991del32	rs397508445
340	c.2875delG	p.Ala959HisfsX9	3007delG	rs397508447

Продолжение приложения В таблицы 22

341	c.2896delA	p.Thr966Argfs X2	3028delA	rs397508451
342	c.2900T>C	p.Leu967Ser	L967S	rs1800110
343	c.2908G>C	p.Gly970Arg	G970R	rs397508453
344	c.(2908+1_2909-1) (3367+1_3368-1)del	No protein name	CFTRdele16-17b	not found
345	c.2909G>A	p.Gly970Asp	G970D	rs386134230
346	c.2930C>T	p.Ser977Phe	S977F	rs141033578
347	c.2936A>T	p.Asp979Val	D979V	rs397508462
348	c.2998delA	p.Ile1000Leufs X2	3130delA	rs397508475
349	c.2988G>A	No protein name	3120G->A	rs121908797
350	c.(2988+1_2989-1) (3367+1_3368-1)del	No protein name	CFTRdele17a,17b	not found
351	c.(2988+1_2989-1) (3468+1_3469-1)del	No protein name	CFTRdele17a-18	not found
352	c.2988+1G>A	No protein name	3120+1G->A	rs75096551
353	c.2989-1G>A	No protein name	3121-1G->A	rs397508470

Продолжение приложения В таблицы 22

354	c.2989-2A>G	No protein name	3121-2A->G	rs193922515
355	c.2989-977_3367+248del	No protein name	3121-977_3499+248del2515	not found
356	c.2991G>C	p.Leu997Phe	L997F	rs1800111
357	c.3002_3003delTG	p.Val1001AspfsX45	3132delTG	rs397508477
358	c.3017C>A	p.Ala1006Glu	A1006E	rs397508480
359	c.3011_3019delCT ATAGCAG or c.3009_3017delA GCTATAGC	p.Ala1004_Ala1006del	3143del9	rs1562914072
360	c.3039delC	p.Tyr1014ThrfsX9	3171delC	rs121908781
361	c.3039dupC	p.Tyr1014Leuf sX33	3171insC	rs397508485
362	c.3041A>G	p.Tyr1014Cys	Y1014C	rs149279509
363	c.3047T>C	p.Phe1016Ser	F1016S	rs397508488
364	c.3067_3072delAT AGTG	p.Ile1023_Val1024del	3199del6	rs121908767
365	c.3080T>C	p.Ile1027Thr	I1027T	rs1800112
366	c.3095A>G	p.Tyr1032Cys	Y1032C	rs144055758
367	c.3103C>T	p.Gln1035X	Q1035X	rs397508496
368	c.3107C>A	p.Thr1036Asn	T1036N	rs397508498

Продолжение приложения В таблицы 22

369	c.3124C>T	p.Gln1042X	Q1042X	rs397508500
370	c.3139_3139+1del GG	p.Gly1047Glnf sX28	3271delGG	rs397508505
371	c.(3139+1_3140- 1)_(3367+1_3368- 1)del	No protein name	CFTRdele17b	not found
372	c.3140-26A>G	No protein name	3272-26A->G	rs76151804
373	c.3154T>G	p.Phe1052Val	F1052V	rs150212784
374	c.3158C>T	p.Thr1053Ile	T1053I	rs140883683
375	c.3160C>G	p.His1054Asp	H1054D	rs397508510
376	c.3181G>C	p.Gly1061Arg	G1061R	rs142394380
377	c.3194T>C	p.Leu1065Pro	L1065P	rs121909036
378	c.3196C>T	p.Arg1066Cys	R1066C	rs78194216
379	c.3197G>A	p.Arg1066His	R1066H	rs121909019
380	c.3205G>A	p.Gly1069Arg	G1069R	rs200321110
381	c.3208C>T	p.Arg1070Trp	R1070W	rs202179988
382	c.3209G>A	p.Arg1070Gln	R1070Q	rs78769542
383	c.3217dupT	p.Tyr1073Leuf sX3	3349insT	rs768963919
384	c.3222T>A or c.3220T>C or c.3222T>G	p.Phe1074Leu	F1074L	rs186045772
385	c.3230T>C	p.Leu1077Pro	L1077P	rs139304906
386	c.3266G>A	p.Trp1089X	W1089X	rs78802634

Продолжение приложения В таблицы 22

387	c.3276C>A or c.3276C>G	p.Tyr1092X	Y1092X	rs121908761
388	c.3292T>C	p.Trp1098Arg	W1098R	rs397508531
389	c.3293G>A or c.3294G>A	p.Trp1098X	W1098X	rs397508532 (second rsID not reported)
390	c.3294G>C or c.3294G>T	p.Trp1098Cys	W1098C	rs397508533
391	c.3297C>A	p.Phe1099Leu	F1099L	rs747754623
392	c.3302T>A	p.Met1101Lys	M1101K	rs36210737
393	c.3302T>G	p.Met1101Arg	M1101R	rs36210737
394	c.3304A>T	p.Arg1102X	R1102X	rs397508536
395	c.3310G>T	p.Glu1104X	E1104X	rs397508538
396	c.3353C>T	p.Ser1118Phe	S1118F	rs146521846
397	c.3365delC	p.Thr1122Lysf sX12	3497delC	not found
398	c.(3367+1+3368- 1)_(3468+1_3469- 1)del	No protein name	CFTRdele18	not found
399	c.3368-2A>G	No protein name	3500-2A->G	rs755416052
400	c.3382A>T	p.Arg1128X	R1128X	not found
401	c.3435G>A	p.Trp1145X	W1145X	rs397508561
402	c.3454G>C	p.Asp1152His	D1152H	rs75541969
403	c.3458T>A	p.Val1153Glu	V1153E	rs397508567

Продолжение приложения В таблицы 22

404	c.3468G>A	No protein name	3600G->A	rs139729994
405	c.(3468+1_3469-1)_(3717+1_3718-1)del	No protein name	CFTRdele19	not found
406	c.(3468+1_3469-1)_(3963+1_3964-1)del	No protein name	CFTRdele19-21	not found
407	c.3468+2dupT	No protein name	3600+2insT	not found
408	c.3468+5G>A	No protein name	3600+5G->A	rs1554392801
409	c.3472C>T	p.Arg1158X	R1158X	rs79850223
410	c.3475T>C	p.Ser1159Pro	S1159P	rs397508572
411	c.3476C>T	p.Ser1159Phe	S1159F	rs397508573
412	c.3484C>T	p.Arg1162X	R1162X	rs74767530
413	c.3485G>T	p.Arg1162Leu	R1162L	rs1800120
414	c.3528delC	p.Lys1177SerfsX15	3659delC	rs121908747
415	c.3532_3535dupTCAA	p.Thr1179IlefsX17	3667ins4	rs387906378
416	c.3587C>G	p.Ser1196X	S1196X	rs121908763
417	c.3600delA	p.Asp1201MetfsX10	3732delA	not found
418	c.3605delA	p.Asp1202AlafsX9	3737delA	rs397508587

Продолжение приложения В таблицы 22

419	c.3611G>A or c.3612G>A	p.Trp1204X	W1204X	rs121908764 or rs121908765
420	c.3659delC	p.Thr1220LysfsX8	3791delC	rs121908811
421	c.3691delT	p.Ser1231ProfsX4	3821delT	rs121908783
422	c.3700A>G	p.Ile1234Val	I1234V	rs75389940
423	c.3705T>G	p.Ser1235Arg	S1235R	rs34911792
424	c.3717G>A	No protein name	3849G->A	rs144781064
425	c.3717+4A>G	No protein name	3849+4A->G	rs387906362
426	c.3717+5G>A	No protein name	3849+5G->A	rs193922520
427	c.3717+40A>G	No protein name	3849+40A->G	rs397508595
428	c.3718-2477C>T	No protein name	3849+10kbC->T	rs75039782
429	c.3718-1G>A	No protein name	3850-1G->A	rs387906369
430	c.3718-3T>G	No protein name	3850-3T->G	rs397508596
431	c.3719T>G	p.Val1240Gly	V1240G	rs397508598
432	c.3731G>A	p.Gly1244Glu	G1244E	rs267606723
433	c.3737C>T	p.Thr1246Ile	T1246I	rs397508600
434	c.3744delA	p.Lys1250ArgfsX9	3876delA	rs121908784

Продолжение приложения В таблицы 22

435	c.3745G>A	p.Gly1249Arg	G1249R	rs397508602
436	c.3747delG	p.Lys1250ArgfsX9	3878delG	rs797045159
437	c.3752G>A	p.Ser1251Asn	S1251N	rs74503330
438	c.3761T>G	p.Leu1254X	L1254X	rs397508604
439	c.3763T>C	p.Ser1255Pro	S1255P	rs121909041
440	c.3764C>A	p.Ser1255X	S1255X	rs76649725
441	c.3773dupT	p.Leu1258PhefsX7	3905insT	rs121908789
442	c.3806T>A	p.Ile1269Asn	I1269N	rs156292325 3
443	c.3808delG	p.Asp1270MetfsX8	3940delG	rs763843966
444	c.3808G>A	p.Asp1270Asn	D1270N	rs11971167
445	c.3822G>A	p.Trp1274X	W1274X	rs397508613
446	c.3846G>A	p.Trp1282X	W1282X	rs77010898
447	c.[3846G>A;3848G>T]	p.[Trp1282X;Arg1283Met]	W1282X;R1283M	not found
448	c.3848G>T	p.Arg1283Met	R1283M	rs77902683
449	c.3872A>G	p.Gln1291Arg	Q1291R	rs397508621
450	c.3873G>C	p.Gln1291His	Q1291H	rs121909015
451	c.3873+1G>A	No protein name	4005+1G->A	rs143570767
452	c.(3873+1_3874-1)_(3963+1_3964-1)del	No protein name	CFTRdele21	not found

Продолжение приложения В таблицы 22

453	c.3873+2T>C	No protein name	4005+2T->C	rs146795445
454	c.3883_3886delATT	p.Ile1295PhefsX32	4010del4	rs397508628
455	c.3883delA	p.Ile1295PhefsX33	4015delA	rs397508630
456	c.3889dupT	p.Ser1297PhefsX5	4016insT	rs397508631
457	c.3891dupT	p.Gly1298TrpfsX4	4022insT	rs397508631
458	c.3908delA	p.Asn1303ThrfsX25	4040delA	rs397508637
459	c.3909C>G	p.Asn1303Lys	N1303K	rs80034486
460	c.3929G>A	p.Trp1310X	W1310X	rs397508645
461	c.3937C>T	p.Gln1313X	Q1313X	rs121909026
462	c.(3963+1_3964-1)(*1_?)del	No protein name	CFTRdele22-24	not found
463	c.3964-78_4242+577del	No protein name	CFTRdele22,23	not found
464	c.3971T>C	p.Leu1324Pro	L1324P	rs397508653
465	c.3988C>T	p.Gln1330X	Q1330X	rs375661578
466	c.4004T>C	p.Leu1335Pro	L1335P	rs397508658
467	c.4036_4042del	p.Leu1346MetfsX6	4168delCTAAGCC	rs397508662
468	c.4046G>A	p.Gly1349Asp	G1349D	rs193922525
469	c.4077_4080delTTinsAA	No protein name	4209TGTT->AA	rs397508668

Продолжение приложения В таблицы 22

470	c.4086dupT	p.Lys1363X	4218insT	rs397508669
471	c.4097T>A	p.Ile1366Asn	I1366N	rs200955612
472	c.4111G>T	p.Glu1371X	E1371X	rs397508675
473	c.4124A>C	p.His1375Pro	H1375P	rs397508678
474	c.4127_4131delTG GAT	p.Leu1376Serf sX8	4259del5	rs155439752 7
475	c.4144C>T	p.Gln1382X	Q1382X	rs397508684
476	c.4147dupA	p.Ile1383Asnfs X3	4279insA	rs397508685
477	c.4197_4198delCT	p.Cys1400X	4326delTC	rs397508693
478	c.4231C>T	p.Gln1411X	Q1411X	rs397508701
479	c.4234C>T	p.Gln1412X	Q1412X	rs397508702
480	c.4242+1G>T	No protein name	4374+1G->T	rs372227120
481	c.4242+1G>A	No protein name	4374+1G->A	rs372227120
482	c.4251delA	p.Glu1418Argf sX14	4382delA	rs397508706
483	c.4300_4301dup	p.Ser1435Glyfs X14	4428insGA	rs397508709
484	c.4364C>G	p.Ser1455X	S1455X	rs12190903
485	c.4426C>T	p.Gln1476X	Q1476X	rs37470555
489	c.4439T>C	p.Leu1480Pro	L1480P	rs75881861